

**CONSTRUCCIÓN DE UNA RED FARMACOLÓGICA BASADA EN SIMULACIONES  
FARMACODINÁMICAS Y FARMACOCINÉTICAS IN SILICO PARA LA SELECCIÓN  
RACIONAL DE MEDICAMENTOS CON ACTIVIDAD LEISHMANICIDA**

**CHRISTIAN BUSTAMANTE TORO**

**CORPORACIÓN DE CIENCIAS BÁSICAS BIOMÉDICAS**

**FACULTAD DE MEDICINA**

**UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA**

**MEDELLÍN**

**2017**

**CONSTRUCCIÓN DE UNA RED FARMACOLÓGICA BASADA EN SIMULACIONES  
FARMACODINÁMICAS Y FARMACOCINÉTICAS IN SILICO PARA LA SELECCIÓN  
RACIONAL DE MEDICAMENTOS CON ACTIVIDAD LEISHMANICIDA**

**CHRISTIAN BUSTAMANTE TORO**

**Trabajo de grado para optar al título de Magíster en Ciencias Básicas Biomédicas,  
con énfasis en Informática Médica**

**Tutor:**

**Carlos Enrique Muskus López MSc, PhD**

**Comité Tutorial:**

**Andrés Felipe Zuluaga Salazar MD, MSc**

**Rodrigo Alonso Ochoa Deossa MSc**

**Margarita María Restrepo Garay MSc**

**Corporación De Ciencias Básicas Biomédicas**

**Facultad De Medicina**

**Universidad de Antioquia**

**Medellín**

**2017**

## CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN.....	6
1.1 Generalidades de Leishmaniasis .....	6
1.2 Búsqueda de nuevos tratamientos contra la leishmaniasis.....	11
1.3 Farmacocinética.....	14
1.4 Redes de interacción de proteínas.....	16
2. ESTADO DEL ARTE.....	19
2.1. Tamizaje virtual .....	19
2.2 Como se ha utilizado la farmacocinética para la priorización de compuestos .....	22
3. OBJETIVOS.....	26
3.1 Objetivo General .....	26
3.2 Objetivos específicos .....	26
4. METODOLOGÍA .....	27
4.1 Búsqueda de medicamentos con potencial actividad anti-Leishmania por análisis de homología molecular.....	27
4.2 Redes de interacción.....	29
4.2.1 Red de interacción proteína-proteína: Análisis topológico y análisis de ontología de genes.....	29
4.2.2 Red de interacción fármaco-proteína.....	30
4.3 Simulaciones Farmacocinéticas.....	30
4.3 Predicción de variables toxicológicas para compuestos .....	32
4.4 Modelo de selección de compuestos para evaluación in vivo .....	35
5. RESULTADOS .....	36
5.1 Medicamentos con potencial actividad anti-Leishmania.....	36
5.2 Redes de interacción.....	41
5.3 Simulaciones Farmacocinéticas.....	51
5.4 Selección y predicción de variables toxicológicas para la evaluación de compuestos.....	55
5.5 Modelo de selección de compuestos y fármacos para evaluación in vivo	59
6. DISCUSIÓN.....	61

7. CONCLUSIONES .....	68
8. BIBLIOGRAFÍA.....	69
9. LISTA DE TABLAS.....	73
10. LISTA DE FIGURAS .....	73
11. ANEXOS .....	74
Anexo I. Hits obtenidos en la búsqueda de medicamentos con potencial actividad anti-Leishmania por homología molecular para cada especie evaluada. ....	74
Anexo I-a. Leishmania mexicana .....	74
Anexo I-b. Leishmania panamensis .....	78
Anexo I-c. Leishmania major.....	82
Anexo I-d. Leishmania braziliensis.....	90
Anexo I-e. Leishmania infantum.....	96
Anexo II. Simulaciones farmacocinéticas.....	101
Anexo III. Hubs y bottlenecks hallados por análisis de ontología de genes. ....	120

## **ABREVIACIONES**

ADME: Absorción, Distribución, Metabolismo y Excreción

BLAST: Basic Local Alignment Search Tool

CI<sub>50</sub>: Concentración Inhibitoria 50

CE<sub>50</sub>: Concentración Efectiva

Cl: Depuración de fármacos (Clearance)

DHFR: Dihidrofolato Reductasa

DMSO: Dimetilsulfóxido

DNDi: Drug for Neglected Diseases initiative

EMA: European Medicines Agency

FDA: Food and Drug Administration

HPLC: Cromatografía líquida de alta resolución (High Resolution Liquid Chromatography)

Ka: Constante de absorción de fármacos

MDR: Máxima Dosis Recomendada de un fármaco

NOEL: Nivel de efecto no observable de un fármaco (del inglés No Observable effect Level)

OMS: Organización Mundial de la Salud

PDB: Protein Data Bank

PECET: Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales

Q2: Depuración de fármacos entre compartimiento central y periférico

RIP: Redes de Interacción de proteínas

Vd: Volumen de distribución de un fármaco

VIH: Virus de Inmunodeficiencia Humana

V2: Volumen de distribución en compartimiento periférico

## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1 Generalidades de Leishmaniasis

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la leishmaniasis está clasificada como una enfermedad tropical desatendida, que afecta principalmente a la población de bajos recursos de países en vía de desarrollo<sup>1</sup>(“WHO | Leishmaniasis”). 98 países alrededor del mundo han declarado la leishmaniasis como enfermedad endémica y anualmente son reportados más de 1.3 millones de casos nuevos, de los cuales entre 20.000 y 30.000 resultan fatales. Sin embargo, es importante tener en cuenta que, debido a que muchos de los casos se presentan en lugares aislados y en ocasiones de difícil acceso, no todos los casos son reportados ni registrados oficialmente. Lo cual haría que estos datos sean mayores en la realidad (Alvar et al., 2012; WHO| Leishmaniasis).

La leishmaniasis es una enfermedad producto de la infección por parásitos del género *Leishmania*, género que a su vez puede dividirse en los subgéneros *Leishmania* y *Viannia*. El subgénero *Leishmania* se encuentra principalmente en el Viejo Mundo (Europa, África y Asia) aunque también se puede encontrar algunas especies en el Nuevo Mundo (América) e incluye especies como: *L. major*, *L. donovani*, *L. infantum*, *L. amazonensis*, *L. mexicana*. Por otro lado, el subgénero *L. Viannia* se presenta en el Nuevo Mundo e incluye especies como: *L. braziliensis*, *L. panamensis*, *L. guyanensis* y *L. peruviana*. Estos parásitos requieren de insectos flebótomos de los géneros *Phlebotomus* y *Lutzomyia*, que actúan como vector para su transmisión (Desjeux, 2004). Por esto, en el ciclo de vida del parásito se pueden observar dos estadios principales: La forma de amastigote en los mamíferos hospederos incluido el humano y la forma de promastigote en el sistema digestivo del insecto vector.

La forma de amastigote es intracelular, ligeramente esférica y sin motilidad considerable. Se desarrolla luego de que promastigotes en estado infectivo son

transmitidos al mamífero por la picadura de hembras del insecto vector infectadas con el parásito. Estos promastigotes son fagocitados por macrófagos y confinados en fagolisosomas, donde se transforman en amastigotes debido a las condiciones de acidez y temperatura, principalmente. Una vez se desarrolla el amastigote este puede replicarse a libertad dentro del fagolisosoma del macrófago conllevando a la lisis del macrófago e infectando nuevos macrófagos en la vecindad que lo fagociten (Bates & Rogers, 2004).

En contraste, la forma de promastigote es extracelular, alargada y posee un flagelo que le confiere motilidad. La forma de promastigote exhibe también diferentes estados morfológicos que se encuentran en diferentes puntos del tracto digestivo del insecto. Las dos principales formas morfológicas del promastigote son: promastigote procíclico y promastigote metacíclico, siendo la primera una forma principalmente replicativa y con poca capacidad de infección y la segunda, una forma no muy activa replicativamente pero con una mayor capacidad de infección a mamíferos hospederos (Bates & Rogers, 2004).

La leishmaniasis se presenta en tres diferentes formas clínicas: cutánea, la más prevalente en nuestro país y en el mundo, la mucocutánea, que puede causar mutilaciones de las mucosas, sobre todo la orofaríngea y visceral, la cual puede resultar fatal si no se trata a tiempo y adecuadamente.

La leishmaniasis cutánea se caracteriza por una lesión en el sitio de inoculación del parásito. La lesión típica comienza en forma papular o nodular y crece convirtiéndose en una úlcera con bordes elevados, sin embargo, también existen lesiones nodulares, verrugosas e incluso algunas asemejan unos simples lunares. La forma cutánea puede curarse sin tratamiento luego de meses o incluso años, sin embargo, suele dejar cicatrices deprimidas con coloración diferente e incluso algunas veces generar problemas de movilidad para el paciente, si la lesión se presentó en extremidades. Esta forma puede ser localizada, si solo se presenta una lesión en el lugar de la infección, o diseminada cuando se presentan más lesiones en sitios diferentes al punto de

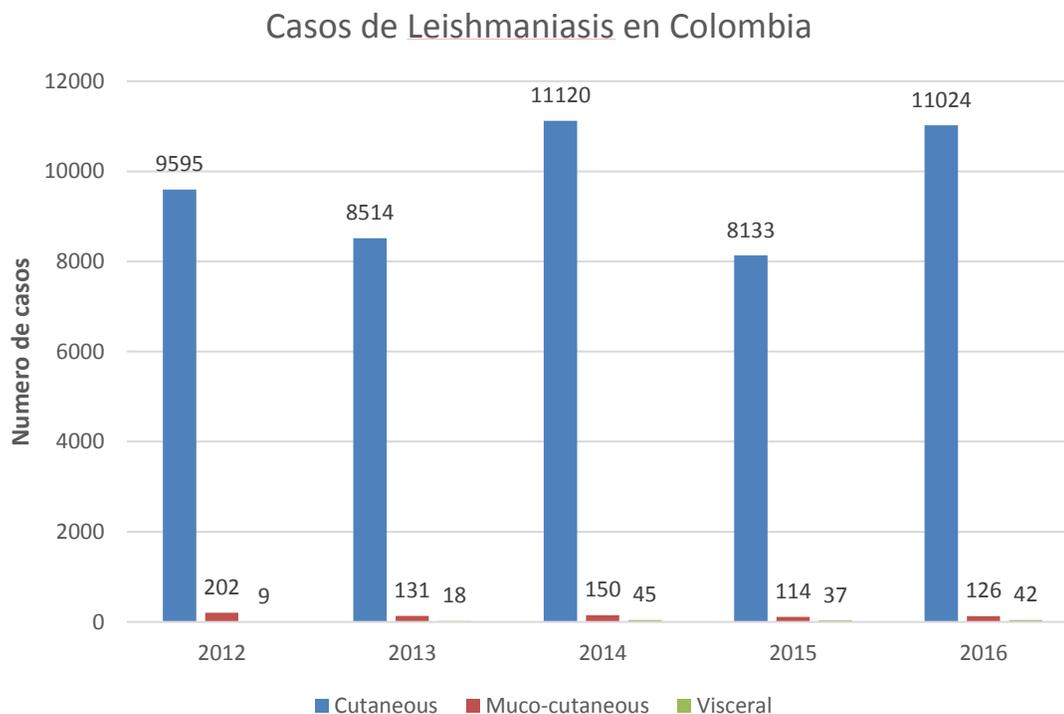
infección, las lesiones en este caso no suelen desarrollarse hasta una úlcera, aunque pueden ser crónicas y con recaídas.

La leishmaniasis mucocutánea se observa principalmente en el Nuevo Mundo. En este caso los parásitos migran desde el punto de inoculación y generan lesiones en la mucosa oral y del tracto respiratorio superior. Esta se puede presentar meses o años después de una manifestación cutánea o concomitante con una lesión en piel. Generalmente no se cura sin tratamiento farmacológico y su etapa avanzada puede resultar en la mutilación de las mucosas mencionadas.

La leishmaniasis visceral se presenta mayoritariamente en niños menores de 10 años los cuales pueden manifestar anorexia, pérdida de peso, fiebre, esplenomegalia y hepatomegalia. Condiciones de desnutrición e inmunodepresión generan una predisposición para el desarrollo de esta forma y se requiere de tratamiento farmacológico para su cura.

La forma clínica en la cual se manifiesta la enfermedad está muy asociada con la especie de *Leishmania* causante de la infección. Se ha observado que la forma visceral es causada comúnmente por las especies *L. infantum*, (anteriormente denominada *L. chagasi* en América) y *L. donovani*, mientras que las formas cutánea y mucocutánea por las especies *L. mexicana*, *L. braziliensis*, *L. panamensis*, *L. major* y *L. tropica* (Comite de expertos de la OMS, 2010).

En Colombia, el número promedio de casos reportados en los últimos 5 años es de alrededor 10.000 casos entre las 3 diferentes formas clínicas de la enfermedad. En la figura 1 se presentan el número de casos de leishmaniasis por año y forma clínica en los últimos 5 años (Instituto Nacional de Salud INS, 2017).



**Figura 1.** Casos de Leishmaniasis en Colombia (2012-2016)

En nuestro país se han utilizado los antimoniales pentavalentes como primera línea de tratamiento de la leishmaniasis, estos son: meglumina antimoniato (Glucantime) y estibogluconato de sodio (Pentostam). Otros medicamentos bastante utilizados para el tratamiento de esta infección son Anfotericina B y Miltefosina con los cuales se puede obtener resultados terapéuticos similares a los antimoniales pentavalentes pero su costo es más elevado (Minodier & Parola, 2007). Un último grupo de medicamentos que han sido utilizados en el tratamiento con cierto éxito son la pentamidina, paromomicina y sitamaquina, sin embargo su disponibilidad es más limitada (Singh, Kumar, & Singh, 2012).

Pese a contar con estas opciones terapéuticas, el tratamiento farmacológico de la leishmaniasis no es por completo satisfactorio. La mayoría de los medicamentos mencionados poseen amplio número de reacciones adversas (ver tabla 1) y están contraindicados en diversas condiciones, como embarazo

en el caso de miltefosina y problemas cardiacos en el caso de los antimoniales. Además, se ha reportado la adquisición de resistencia del parasito a algunos de ellos.

**Tabla 1.** Tratamiento farmacológico de la leishmaniasis y Reacciones Adversas al medicamento (RAM) asociadas.

Medicamento	Reacciones Adversas al Medicamento (RAM)
Antimoniales	Las más frecuentes son: Fiebre, cefalea, trastornos gastrointestinales, mialgias y dolor en el sitio de inyección Menos frecuentes: arritmia cardiaca, anemia hemolítica, alteración hepática, alteración renal, muerte súbita.
Anfotericina B	Fiebre, escalofríos, espasmos musculares, vomito, cefalea, hipotensión. Con uso prolongado puede producir daño renal.
Miltefosina	Los más comunes son vómito y diarrea. También se pueden presentar elevaciones de las enzimas hepáticas y efecto teratógeno
Pentamidina	50 % de los pacientes reportan RAM La administración rápida puede producir hipotensión, taquicardia, mareos y disnea, toxicidad pancreática, hipoglucemia, Insuficiencia renal reversible. Otros menos frecuentes son: erupciones cutáneas, fiebre, trastornos gastrointestinales, alteraciones de las pruebas de función hepática, hipocalcemia y arritmias cardiacas.
Paromomicina	Nefrotoxicidad y ototoxicidad
Sitamaquina	Vómito, dispepsia, cianosis, glomerulonefritis, insuficiencia renal.

Otro factor que ha afectado el acceso a estos medicamentos es su relativo alto costo. La leishmaniasis es una enfermedad que ha sido asociada a la pobreza y muchos de los pacientes que la padecen no pueden pagar con recursos propios el tratamiento. Sumado a esto, el mercado de estos medicamentos no es rentable y hace que las industrias farmacéuticas se interesen poco en su producción. Por todo lo anterior, la OMS y otras organizaciones no gubernamentales como DNDi han emprendido diferentes iniciativas con el ánimo

de facilitar el acceso a los medicamentos usados para la leishmaniasis y también han fomentado la búsqueda de nuevos tratamientos que permitan luchar contra la enfermedad de una forma más eficaz, más segura para el paciente y económicamente accesible.

## **1.2 Búsqueda de nuevos tratamientos contra la leishmaniasis**

En la actualidad para la búsqueda y descubrimiento de nuevos tratamientos se utilizan principalmente dos enfoques: *de novo* y segundos usos de fármacos conocidos.

En el descubrimiento *de novo* se desarrolla o se encuentra una nueva molécula, que no ha sido utilizada terapéuticamente para el tratamiento de una patología específica. Este enfoque ha sido ampliamente utilizado por la industria farmacéutica y aunque de esta forma se han obtenido la mayoría de fármacos utilizados actualmente, una de sus características es que requiere de inversiones económicas muy altas y tiempos de desarrollo extensos. Se ha estimado que el costo de poner un fármaco nuevo en el mercado oscila entre 500 y 2000 millones de dólares y el tiempo de desarrollo es entre 10 y 17 años (Adams & Van Brantner, 2006; Ashburn & Thor, 2004). Está claro que muy pocas industrias farmacéuticas invertirán estas cantidades de tiempo y dinero en desarrollo de un fármaco que no posea un mercado suficientemente grande para garantizar el retorno de su inversión. En el caso de las enfermedades olvidadas, como la leishmaniasis, la relación entre el riesgo de la inversión y las ganancias obtenidas con la comercialización del nuevo fármaco no resulta atractiva para las farmacéuticas, por esta razón se observa que su investigación se centra en otro tipo de patologías (Trouiller et al., 2002). Aquí, podría resultar importante la asociación entre universidades y grupos de investigación que realizan investigación básica con industrias farmacéuticas sólidas financieramente y que estén dispuestas a financiar la investigación de moléculas promisorias encontradas por los grupos académicos mencionados.

En forma general, el descubrimiento *de novo* se desarrolla bajo el siguiente flujo de trabajo: *i)*, identificación de un blanco molecular donde potencialmente pueden interactuar fármacos, esto implica el entendimiento de las funciones biológicas que este blanco desempeña y las posibles implicaciones que puede tener el ejercer acción sobre él. *ii)*, encontrar o diseñar moléculas que puedan interactuar con ese blanco, alterando sus funciones de forma tal que se obtenga el efecto deseado. *iii)*, optimizar esos potenciales ligandos encontrados, mejorando su afinidad y selectividad por el blanco, pero también pensando en su formulación como medicamento y en su desempeño en un contexto fisiológico, esto es, estabilidad química, variables fisicoquímicas como: solubilidad, coeficiente de partición, ionización, entre otros. Estableciendo de esta forma series químicas de compuestos promisorios. *iv)*, se empieza a evaluar la seguridad y efectividad de los compuestos etiquetados como promisorios. Esta evaluación se realiza de forma inicial en líneas celulares y, posteriores a ello, se realizan generalmente pruebas en animales. Para finalmente, en un quinto paso, evaluar la seguridad y la efectividad del uso de estas moléculas en humanos, donde aquellos compuestos que obtengan buenos resultados podrán ser registrados y comercializados como medicamentos. Algunos ejemplos de medicamentos obtenidos por este camino se encuentran: Linezolid, imatinib y zanimivir (Swinney, 2013).

Es importante mencionar que no siempre en el descubrimiento de medicamentos se sigue este flujo descrito. En el caso particular de los medicamentos usados en el tratamiento de la leishmaniasis, en ninguno de ellos se siguió estrictamente este flujo para encontrar su actividad contra el parásito. En el caso de la miltefosina y la anfotericina B, desarrollados de forma inicial como antineoplásico y antimicótico respectivamente, se encontró actividad contra el parásito como un segundo uso. Además, con el avance en los métodos de tamizaje experimental masivo de compuestos, ha sido bastante utilizado el método de ensayo-error, donde se realizan pruebas de actividad leishmanicida a gran cantidad de moléculas de forma aleatoria, sin tener en cuenta ningún blanco en particular o ninguna otra hipótesis que permita presumir una efectividad contra el parásito.

Con este último enfoque, si bien es posible encontrar algún compuesto promisorio por puro azar, se puede invertir gran cantidad de recursos y tiempo sin encontrar nada mínimamente interesante.

Por otro lado, en la búsqueda de segundos usos de fármacos conocidos, como su nombre lo indica, se buscan aplicaciones terapéuticas diferentes a la que originalmente fue dada a un fármaco. Este enfoque se ha hecho popular en los últimos años en la industria farmacéutica debido a que resulta más rápido y económico que el descubrimiento *de novo* y más racional que el ensayo-error. Los tiempos estimados para poner en el mercado un fármaco con segundo uso varían entre 3 y 12 años, esta disminución de tiempos obedece principalmente a que, para los fármacos aprobados, ya se conoce el comportamiento farmacocinético, los perfiles de seguridad y toxicidad de los medicamentos, variables que al no ser adecuadas hacen que se descarte un número significativo de moléculas con potencial farmacológico en el desarrollo *de novo* (Ashburn & Thor, 2004; Novac, 2013).

Algunas de las formas como se pueden identificar segundos usos de medicamentos son: por medio de docking molecular entre fármacos y proteínas de interés; con bases de datos de efectos secundarios y fármacos promiscuos (aquellos que ejercen efecto sobre más de un blanco); o por el método de homología molecular, donde se busca similitud entre blancos de fármacos conocidos y alguna proteína de interés. Esto solo por mencionar algunos de los métodos utilizados.

Existen múltiples ejemplos exitosos del desarrollo de segundos usos medicamentos, además de los casos de miltefosina y anfotericina B ya mencionados, donde se puede apreciar la utilidad de este enfoque. En la tabla 2 se presentan algunos de estos ejemplos.

**Tabla 2.** Ejemplos de fármacos con segundos usos aprobados

<b>Fármaco</b>	<b>Indicación original</b>	<b>Segundo uso</b>
Minoxidil	Hipertensión	Alopecia
Sildenafil	Angina	Disfunción eréctil
Talidomida	Nauseas embarazo	Antineoplásico
Sibutramina	Depresión	Obesidad
Zidovudina	Cáncer	VIH

En este trabajo se presentarán un compendio de herramientas informáticas aplicadas con el objetivo de aumentar la probabilidad de tener éxito en la fase experimental de la búsqueda de tratamientos para la leishmaniasis.

En este trabajo se utilizaron los dos enfoques: *de novo*, en el cual se usó como punto de partida una extensa librería de compuestos que aún no son medicamentos y búsqueda de segundos usos, donde se utilizaron librerías de fármacos aprobados para uso en humanos. Si bien ambos enfoques resultan útiles y pueden conducir a hallazgos interesantes, es de resaltar que, el enfoque de segundos usos resulta más adecuado en la búsqueda de nuevos tratamientos de las enfermedades olvidadas pues disminuye la inversión de tiempo y dinero lo que a su vez disminuye el riesgo en el desarrollo y puede resultar más atractivo para financiación.

### **1.3 Farmacocinética.**

La farmacocinética es una rama de la farmacología que estudia el destino de cualquier sustancia desde el momento que esta entra a un organismo vivo hasta abandona dicho organismo. Todo este recorrido que atraviesa cualquier compuesto en un organismo puede resumirse en cuatro principales procesos: Absorción, Distribución, Metabolismo y Excreción, procesos que en conjunto denominados son comúnmente por su acrónimo ADME. Hablando en particular del ser humano y los medicamentos por él usados, **la absorción** se refiere al proceso por el cual un fármaco, administrado por una vía diferente a la

intravenosa, logra llegar a circulación sistémica y esta fracción que alcanza a circular libremente por el torrente sanguíneo será la responsable de ejercer los efectos terapéuticos sobre el organismo. **La distribución** describe a su vez que cantidad de esta fracción absorbida es capaz de pasar a través de las diferentes barreras fisiológicas, a que tejidos puede llegar este fármaco y con qué afinidad lo hace. **El metabolismo** determina todos los cambios químicos que el organismo realiza sobre el fármaco principalmente con el objetivo de aumentar la solubilidad del fármaco y con ello facilitar el último proceso: **la excreción**, que describe la velocidad y la vía por la cual el organismo elimina el fármaco del organismo.

Los estudios farmacocinéticos son de vital importancia en el descubrimiento y desarrollo de nuevos medicamentos, además, agencias como la FDA (Food and Drug Administration) y EMA (European Medicines Agency) los exigen como requisito indispensable para la comercialización de cualquier medicamento. Las fallas o problemas farmacocinéticos han sido históricamente un problema a superar en el descubrimiento de medicamentos. Un estudio en la década de los 80 y principios de los 90, mostró que el 40% de los retiros de candidatos a fármacos fue debido a características farmacocinéticas no deseables (Lin & Lu, 1997). Sin embargo, el desarrollo de los estudios farmacocinéticos y el diseño químico de compuestos orientado a obtener características fisicoquímicas que faciliten obtener comportamientos farmacocinéticos deseables ha hecho que este porcentaje se reduzca considerablemente. Al punto que en la década del 2000 cuatro importantes empresas farmacéuticas reportaron que solo el 5% de los retiros de candidatos a fármacos fueron asociados a problemas farmacocinéticos (Waring et al., 2015).

Si bien estos estudios farmacocinéticos se inician desde la fase preclínica, suelen consolidarse en las primeras etapas de la evaluación clínica y tienen como principal objetivo determinar el perfil de concentración plasmática en el tiempo luego de administrar un medicamento, lo cual resulta útil para definir el rango de dosis en el cual un medicamento puede ser administrado a un paciente

y alcanzar concentraciones en sangre suficientes para ejercer el efecto terapéutico deseado.

Otra aplicación de los perfiles farmacocinéticos, bastante usada en el desarrollo de medicamentos y clínicamente para la optimización en la dosificación de fármacos, son los modelos farmacocinéticos/farmacodinámicos (PK/PD por sus siglas en inglés). Estos resultan de la combinación de los modelos farmacocinéticos con modelos farmacodinámicos. Estos últimos describen la relación entre las concentraciones plasmáticas de fármaco y el efecto terapéutico. De esta forma, los modelos PK/PD permiten describir el comportamiento del efecto terapéutico en el tiempo luego de administrar una dosis dada de un medicamento (Meibohm, 1999).

Dado que los medicamentos que ya han sido aprobados para comercialización cuentan con valiosa información farmacocinética y perfiles de seguridad, en el presente trabajo se decidió hacer uso de ello para la búsqueda de tratamientos contra la leishmaniasis como segundo uso de medicamentos indicados originalmente para otras patologías. Si bien no se realizaron modelos PK/PD de forma estricta, si se realizó un acercamiento inicial, donde se compararon los perfiles farmacocinéticos de medicamentos de interés con su respectiva concentración efectiva 50 ( $CE_{50}$ ) *in vitro* contra el parásito. Con esto se busca tener una idea sobre la efectividad que podría presentar un medicamento al ser administrado a pacientes con leishmaniasis.

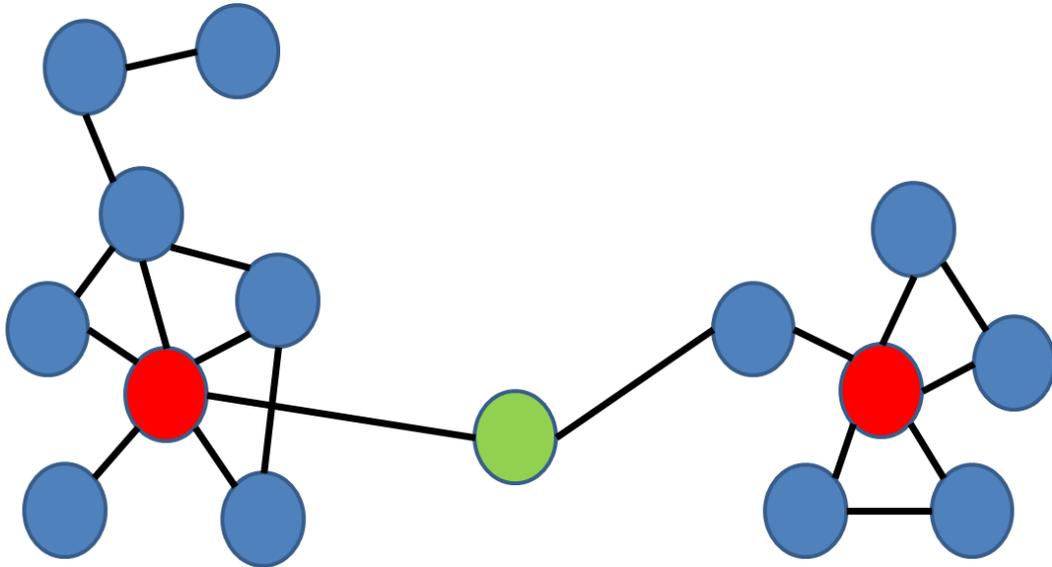
#### **1.4 Redes de interacción de proteínas**

Una de las propiedades de las proteínas a nivel celular es su capacidad para interactuar con otras proteínas y moléculas, y por medio de estas interacciones pueden desempeñar su función y ser reguladas en el entorno celular. Sin embargo, el estudio de las interacciones de una proteína particular de forma aislada puede no ser suficiente para determinar la importancia o el rol que esta

proteína desempeña dentro de una célula. Para esto sería quizás más acertado un estudio con todas o con una buena proporción de las proteínas de una célula tomadas como un conjunto y todas las interacciones de cada una de ellas. Esto equivaldría a darle un contexto a las proteínas dentro de la célula. Aunque esto requeriría del manejo de una cantidad de información bastante extensa que podría ser difícil de procesar y analizar con el fin de hacer inferencias basándose en ella. Sin embargo, el surgimiento de programas computacionales ha ayudado a mejorar y a agilizar la predicción de interacciones proteicas.

Las redes de interacción de proteínas (RIP) son una representación gráfica de las proteínas de una célula y las interacciones existentes entre ellas. En las RIP las proteínas son representadas como nodos y las interacciones entre ellas son representadas como líneas o ejes que unen dos nodos entre sí (figura 2). Esta abstracción simplificada permite manejar y visualizar toda esta gran cantidad de información que representan, además, por medio de un análisis matemático, comúnmente denominado análisis topológico, se puede inferir la importancia de un nodo dado, para la interconexión global de la red (Barabási & Oltvai, 2004).

Por medio de un análisis topológico se pueden identificar dentro de una RIP principalmente dos tipos de nodos: hubs y bottlenecks. Los hubs son nodos con alta interacción por lo cual ocupan posiciones centrales dentro de la red y los bottlenecks son nodos poco interconectados pero median la interacción entre grupos de nodos participantes en un proceso o función celular (figura 2) (Csermely et al., 2013).



**Figura 2.** Representación general de una red de interacción de proteínas. Los nodos circulares representan proteínas y los ejes representados como líneas continuas representan las interacciones entre ellas. Los nodos rojos corresponden a hubs y el nodo en verde a un bottleneck.

Las RIP han sido ampliamente utilizadas en el proceso de descubrimiento de nuevos medicamentos, especialmente en la identificación de potenciales dianas terapéuticas, por medio de análisis topológico. Además, han sido utilizadas para la identificación de potenciales segundos usos de medicamentos ya existentes (Campillos et al., 2008; Cheng et al., 2012).

En el presente trabajo se usan RIP previamente construidas en el PECET, con el ánimo de identificar proteínas importantes para el normal funcionamiento del parásito *Leishmania*, además, se incluyen fármacos en las redes con el fin de identificar segundos usos de medicamentos y una posible interacción positiva entre ellos, que conduzca a una mayor efectividad contra el parásito al ser administrados de forma concomitante.

## 2. ESTADO DEL ARTE

### 2.1. Tamizaje virtual

En la búsqueda de nuevos medicamentos el espacio químico o el número de compuestos, en especial orgánicos, que podrían llegar a ser sintetizados parece ilimitado. Con el desarrollo y automatización de métodos de síntesis, la química combinatorial y el tamizaje de alto rendimiento de las librerías químicas, empleadas en el descubrimiento de medicamentos, pueden llegar a ser demasiado voluminosas. Por esta razón desde finales de la década de los 70 y principio de los 80 se han documentado diferentes métodos que utilizan el poder computacional para filtrar estas librerías y hacerlas más manejables. La aplicación de uno o más de estos métodos se conoce como tamizaje virtual.

El uso de estos métodos conduce al ahorro considerable de tiempo y dinero en el proceso de descubrimiento y desarrollo de medicamentos. Se ha reportado que el uso de estos métodos computacionales, conocidos como métodos *in silico*, genera en promedio un ahorro de 130 millones de dólares y 0.8 años en el desarrollo de cada medicamento que llega al mercado (Seifert et al., 2003).

Los métodos de tamizaje virtual para encontrar potenciales candidatos a medicamento pueden agruparse en dos grandes grupos: Los métodos basados en el blanco, en los cuales se posee la estructura tridimensional de la proteína de interés y por métodos como “docking” o acoplamiento molecular y puntuación, se obtienen potenciales candidatos. El segundo grupo corresponde a aquellos métodos que se basan en el ligando, aquí, se tiene la estructura de un compuesto con conocida bioactividad y por similitud se buscan nuevos compuestos como potenciales candidatos. Luego de la identificación de potenciales candidatos por cualquiera de los dos métodos mencionados puede realizarse un tamizaje adicional a través de la predicción de las propiedades fisicoquímicas, farmacocinéticas y toxicológicas, con lo cual se puede realizar una optimización de los candidatos (Oprea & Matter, 2004).

A continuación, veremos algunos de los trabajos más recientes y relevantes en la búsqueda y desarrollo de medicamentos usando diferentes métodos de tamizaje virtual.

Una de las patologías para la cual ha sido ampliamente utilizado el tamizaje virtual es para la infección con el virus de inmunodeficiencia humana (VIH). En 2009, Bustanji y colaboradores aplicaron el tamizaje virtual en la búsqueda de compuestos promisorios para combatir el virus de inmunodeficiencia humana tipo I. Para ello usaron el enfoque basado en blanco, que en su caso correspondía a la proteína transcriptasa reversa. Partiendo de una librería inicial de más de 230.000 compuestos, realizaron docking molecular con la proteína mencionada y luego de identificar compuestos con probabilidad de inhibirla realizaron un filtro adicional de propiedades fisicoquímicas características de las estructuras moleculares de fármacos. Los 20 compuestos con mejores resultados fueron probados experimentalmente encontrando 4 de ellos con un efecto inhibitorio de la transcriptasa reversa considerable (Bustanji et al., 2009). Previamente, Filikov y colaboradores, usaron una metodología similar, pero tomando como blanco la proteína TAR RNA, que también resulta vital para la replicación del virus. Con ello encontraron 8 potenciales compuestos para el tratamiento del VIH al inhibir la proteína blanco (Filikov et al., 2000). Por otro lado, para la misma enfermedad pero con un enfoque de búsqueda basado en el ligando, Distinto et al., 2012, encontró por similitud con un derivado de la hidrazona, que previamente exhibió actividad, un compuesto con una alta inhibición de transcriptasa reversa. Además de los ejemplos mencionados, se pueden encontrar gran cantidad de trabajos con tamizaje virtual que han aportado en la búsqueda de nuevos tratamientos contra el virus, entre ellos los realizados por Pérez-Nueno en 2009 y Curreli en 2011, sin embargo no es posible mencionar todos ellos en este manuscrito (Curreli et al., 2011; Pérez-Nueno et al., 2009).

El tamizaje virtual también ha sido empleado en la búsqueda de tratamientos de enfermedades parasitarias. Desai y colaboradores utilizaron filtros

computacionales en la búsqueda de medicamentos para la malaria y la leishmaniasis. Partiendo de una base de datos con 241.000 compuestos realizaron un filtro basado en propiedades ADME y las reglas de Lipinski, posterior a ello realizaron docking molecular contra cistein-proteasas, obteniendo de esta forma un total de 24 compuestos activos contra los parásitos mencionados (Desai et al., 2004). Por otro lado, Perez-Pineiro et al., en el 2009 propusieron un protocolo de tamizaje virtual para la búsqueda de inhibidores de tripanotion reductasa para el tratamiento de *T. cruzi* y *T. brucei*. En el sugieren una búsqueda inicial basada en similaridad del ligando con compuestos que han presentado actividad contra esta proteína. Luego realizar un filtro basado en propiedades ADME y toxicológicas para, finalmente, con los compuestos filtrados realizar docking molecular con la tripanotion reductasa. De esta forma ellos lograron formar clústeres de compuestos con potencial inhibición de la proteína. Este flujo de trabajo presentado por ellos resulta útil pues podría aplicarse a otros parásitos sobre alguna proteína de interés (Perez-Pineiro et al., 2009). Un trabajo con una metodología similar, y empleando como modelo *Leishmania*, fue realizado por Rajasekaran & Chen, 2012. En este trabajo, el flujo de trabajo partió de una lista de un poco más 126.000 compuestos con los que realizó docking molecular contra un modelo de la proteína dihidrofolato reductasa (DHFR), luego, para aquellos que mostraron buenos puntajes de interacción se realizó dinámica molecular para observar la estabilidad de la interacción. Posterior a eso, realizaron un filtro empleando las reglas de Lipinski y variables ADME, con lo cual finalmente llegaron a determinar un compuesto bastante promisorio (Rajasekaran & Chen, 2012).

El Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales (PECET) también ha adelantado una serie de trabajos enfocados en la búsqueda *in silico* de nuevos tratamientos contra la leishmaniasis. Uno de los primeros fue la construcción de una red de interacción de proteínas orientada a la identificación de proteínas esenciales para el parásito que sirvieran como blancos moleculares. Por medio de esta red y usando análisis topológicos se determinaron 136 potenciales blancos moleculares para la especie *L. major*,

usando como criterio de selección que fueran esenciales para el parásito y que no presentaran ortólogos en el ser humano (Flórez et al., 2010). Posterior a esto, se realizó un trabajo de tamizaje virtual masivo en el cual se utilizó una librería química compuesta de casi 600.000 compuestos, los cuales cumplían con las reglas de Lipinski, filtro que resulta útil en la búsqueda de medicamentos sobre todo aquellos que van a tener uso sistémico. Con esa librería de compuestos se realizó docking molecular con 53 proteínas de *Leishmania* que contaban con estructura tridimensional dilucidada, además, se realizó dinámica molecular para determinar la conformación más estable de las proteínas, de esta forma, se seleccionaron 10 conformaciones para cada proteína y el cristal original para llevar a cabo el acoplamiento del ligando. Con este proyecto fueron identificados más de mil ligandos con potencial acción sobre el parásito, estos ligandos quedaron disponibles para un filtro adicional, así como para su optimización basada en estructura y su validación in vitro/in vivo (Ochoa et al., 2016).

## **2.2 Como se ha utilizado la farmacocinética para la priorización de compuestos**

Como se mencionó anteriormente, la farmacocinética ha sido ampliamente utilizada en el descubrimiento de medicamentos, entre otras cosas, para la selección o descarte de moléculas en el proceso de desarrollo de medicamentos. Se puede observar que ha sido utilizada con dos enfoques que se complementan en la determinación de las propiedades farmacocinéticas de un compuesto dado. Estos enfoques son el computacional y el experimental. A continuación, veremos algunos trabajos que demuestran la utilidad de estos enfoques y como la farmacocinética ha sido utilizada en el descubrimiento de medicamentos.

El tamizaje farmacocinético *in vivo* se ha realizado tradicionalmente en ratas y ratones, donde se administra al animal el compuesto de interés y posterior a ello se toman muestras de sangre para cuantificar la cantidad de compuesto presente en este fluido por medio de métodos analíticos como HPLC asociado a

espectrometría de masas. Posterior a ello y debido a la necesidad de evaluar gran cantidad de compuestos se desarrolló el método de dosificación en casete, donde se administran simultáneamente al mismo animal múltiples compuestos, si bien este método puede resultar útil y ahorrar tiempos, costos y animales, se debe tener cuidado con la posibilidad de interacción entre los compuestos administrados (Beaudry et al., 1998; Cox et al., 1999; Hsieh, 2008).

En el campo experimental, la fase preclínica de evaluación farmacocinética se ha desarrollado con métodos *in vitro* y en animales. La parte *in vitro* ha utilizado principalmente para modelar la absorción intestinal células Caco-2, estas células, provenientes de tejido de cáncer de colon, simulan adecuadamente la absorción de fármacos. En este ensayo se cuantifica la cantidad de compuesto que logra atravesar una membrana compuesta por este tipo de células. Otro método que se ha desarrollado *in vitro* es el uso de microsomas y hepatocitos para evaluar el metabolismo de un compuesto. En este método los compuestos son sometidos a extractos de microsomas y hepatocitos provenientes de animales e incluso humanos, para determinar la concentración del compuesto original luego de un tiempo determinado. Basándose en los resultados obtenidos por este tipo de ensayos se han realizado múltiples trabajos que han intentado desarrollar modelos computacionales para predecir variables farmacocinéticas de compuestos a partir de descriptores moleculares. Estos modelos, si bien presentan algunas limitaciones en cuanto exactitud de la predicción y la variedad de moléculas a los cuales pueden ser aplicados, han resultado de utilidad en el tamizaje farmacocinético de compuestos (Bergström, 2003; van de Waterbeemd & Gifford, 2003).

En 1997, Lipinski y colaboradores desarrollaron un trabajo que combinó el enfoque experimental y computacional. En él, definieron cuatro reglas (propiedades fisicoquímicas) que describían compuestos con una mala absorción. Este proceso farmacocinético de absorción era para aquel entonces una gran limitante en el desarrollo de medicamentos, por lo cual, estas reglas resultaron bastante útiles y fueron ampliamente acogidas por la comunidad

científica. Este trabajo puede considerarse pionero el campo del tamizaje farmacocinético de compuestos, relacionando propiedades fisicoquímicas con variables farmacocinéticas. A partir de ese momento se han desarrollado muchos otros trabajos que han modificado las cuatro reglas iniciales para hacerlas más precisas, además, se han desarrollado otros modelos predictivos y de evaluación experimental para la determinación de otras variables farmacocinéticas más allá de la absorción (Lipinski, C. A., Lombardo, F., et al, 1997; Moroy, Martiny, et al, 2012).

En la actualidad se encuentran disponibles una gran cantidad de programas computacionales para el tamizaje farmacocinético de compuestos. La selección de alguno de ellos depende a menudo de la cantidad de información disponible sobre el compuesto de interés. De esta forma, si solo se dispone de la estructura molecular de un compuesto existen programas como ADMET Predictor, SwissADME y OSIRIS los cuales permiten predecir variables fisicoquímicas, farmacocinéticas y toxicológicas usando redes neuronales entrenadas a partir de compuestos con datos conocidos. Por otro lado, si se dispone de mayor información y se complementa con datos experimentales pueden ser construidos modelos más elaborados, conocidos como PBPK (por sus siglas en inglés Physiologically based pharmacokinetic) en los cuales se puede simular el comportamiento fisiológico de un compuesto asumiendo una división compartimental del organismo de interés (puede ser realizado para animales o para el ser humano), para el desarrollo de este tipo de modelos existen programas como PKSim y Simcyp. Finalmente, una vez está claramente establecido el perfil farmacocinético de un fármaco pueden ser utilizados programas como ADAPT5, S-ADAPT y PKsolver para la simulación farmacocinética de un fármaco dado luego de administrar una dosis determinada (Bois, 2013; Jamei et al., 2009).

En el presente trabajo, el tamizaje farmacocinético fue utilizado con dos enfoques diferentes. El primero se utilizaron modelos farmacocinéticos de medicamentos aprobados para comercialización, con los cuales se realizaron simulaciones que

permitían establecer las concentraciones plasmáticas alcanzadas por cada fármaco y comparar estas concentraciones con parámetros de efectividad *in vitro* (CE<sub>50</sub>) para inferir la posibilidad de efectividad *in vivo* contra *Leishmania*. Mientras que en el segundo enfoque fue para aquellos compuestos que aún no han sido aprobados para uso como medicamentos. Con estos compuestos se utilizó un enfoque computacional en el cual se utilizaron modelos predictivos incluidos en un software comercial para seleccionar aquellos que tuvieran características farmacocinéticas y toxicológicas deseables en un fármaco.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 *Objetivo General*

Seleccionar moléculas con potencial actividad leishmanicida a través de una red de interacción compuesto-proteína soportada por simulaciones y predicciones farmacológicas.

#### 3.2 *Objetivos específicos*

- Determinar potenciales interacciones entre fármacos y proteínas de *Leishmania spp* por medio de análisis de homología con los blancos moleculares reportados.
- Determinar variables toxicológicas que permitan seleccionar compuestos con la probabilidad de ser menos tóxicas en humanos.
- Obtener información sobre el comportamiento de la concentración plasmática a través del tiempo para los fármacos predichos por análisis homología con potencial acción contra *Leishmania* por medio de simulaciones farmacocinéticas.
- Establecer un modelo de decisión basado en los resultados de las predicciones y simulaciones farmacológicas y la red de interacción fármaco-proteína que permitan guiar los estudios *in vitro/ in vivo* de fármacos con potencial acción leishmanicida.
- Seleccionar los compuestos y medicamentos con mayor probabilidad de tener éxito en estudios *in vitro/ in vivo* basado en los resultados del modelo de decisión.

## 4. METODOLOGÍA

### **4.1 Búsqueda de medicamentos con potencial actividad anti-*Leishmania* por análisis de homología molecular.**

En la búsqueda de nuevos tratamientos contra la leishmaniasis nos planteamos encontrar actividad contra el parásito como un segundo uso de medicamentos ya aprobados para uso en humanos. Para esto usamos el método de homología molecular, en el cual se comparan las secuencias de aminoácidos de las proteínas blancos de los medicamentos de uso actual con las proteínas del parásito. El raciocinio de este análisis está basado y con algunas consideraciones, que si una proteína del parásito es homóloga a una diana farmacológica reconocida, el fármaco que actúa sobre esta diana también podrá interactuar con la proteína homóloga del parásito. Los hallazgos con este enfoque no garantizan una actividad leishmanicida, solo predicen una potencial interacción fármaco-proteína del parásito. Dado que estos son métodos computacionales predictivos, esta metodología, al igual que la mayoría de las herramientas bioinformáticas, debe ser complementada con evaluación experimental *in vitro* y luego *in vivo*. En la búsqueda de homología fue usado el algoritmo BLAST (Basic Local Alignment Search Tool), para comparar las secuencias de las dianas farmacológicas, con las proteínas parasitarias. Adicionalmente, se hizo una valoración de comparación reversa, por medio del protocolo denominado BRH (Por sus siglas en inglés Best Reciprocal Hits). Como datos de entrada se usaron secuencias de 4.242 proteínas conocidas y reportadas como blancos de compuestos experimentales o de fármacos; esta información fue obtenida de la base de datos DrugBank. Además, se usaron las secuencias de todas las proteínas anotadas en la base de datos TriTrypDB para cinco especies diferentes de *Leishmania*. Estas especies y su número respectivo de proteínas fueron: *L. major*, 8400 proteínas; *L. mexicana*, 8250 proteínas; *L. infantum*, 8239 proteínas; *L. braziliensis*, 8357 proteínas y *L. panamensis*, 8665 proteínas. Luego de realizar el alineamiento con BLAST se filtraron todas

aquellas proteínas que cumplieran con los siguientes criterios de selección: porcentaje de identidad mayor a 60%, valor  $e$  menor a  $1 \times 10^{-8}$ , porcentaje de cubrimiento mayor al 70% y puntaje (bit score) mayor a 200. Todas las proteínas que cumplieron con estos criterios fueron denominadas hits. Posterior a esto, usando nuevamente DrugBank, se determinaron los fármacos que actuaban sobre estos hits. Como la finalidad de esta parte metodológica era identificar potenciales segundos usos, se excluyeron aquellos hits que solamente tenían asociados compuestos que aún no han sido aprobados como medicamentos.

Luego de esto, y debido a que el algoritmo BLAST solo compara la estructura primaria de la proteína (secuencia lineal de aminoácidos), se realizó una comparación de las estructuras tridimensionales de las proteínas del parásito con el respectivo blanco farmacológico que se identificó, era homólogo. Para esto se realizó una modelación de la estructura tridimensional de las proteínas del parásito, pues, no se encontraron datos estructurales para ninguna de ellas. Para la modelación se utilizó el programa I-tasser y la calidad de los modelos obtenidos fue evaluada usando los gráficos de Ramachandran, determinando los porcentajes de aminoácidos en zonas favorecidas energéticamente mediante el programa RAMPAGE y los valores y gráficos de Z-score empleando el programa ProSA-web (Wiederstein & Sippl, 2007).

Posterior a ello, se realizó la comparación de estos modelos con las estructuras de los blancos farmacológicos, los cuales si contaban con una estructura tridimensional dilucidada por métodos experimentales. La comparación se realizó usando el programa USFC Chimera 1.10.2. Para valorar la similitud de las estructuras se utilizó el valor RMSD que indica la distancia promedio entre cada átomo al sobreponer ambas estructuras y entre más cercano a cero indica una mayor similitud.

## **4.2 Redes de interacción**

### **4.2.1 Red de interacción proteína-proteína: Análisis topológico y análisis de ontología de genes.**

Para el desarrollo de este punto se utilizó como base una red de interacción proteína-proteína construida previamente en el Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales (PECET). Esta red cuenta con un total de 1273 proteínas para la especie *L. braziliensis* y 27976 interacciones entre ellas. Para conocer detalles sobre la forma en que esta red fue construida se puede revisar el trabajo de Flórez y colaboradores, 2010. Sin embargo, es importante mencionar que esta es una red de interacción no dirigida, es decir, no se especifica la dirección ni el tipo de interacción que presentan dos nodos (en adelante se usará la palabra nodo para referirse a la representación de una proteína dentro de la red). Para la visualización de la red mencionada se usó el programa Cytoscape 3.0.0 y utilizando una de sus aplicaciones, CentiScaPe 2.1, se procedió a realizar un análisis topológico con el fin de determinar los nodos centrales y relevantes dentro de la red. En este trabajo quisimos identificar dos tipos de nodos: Hubs y bottlenecks. CentiScape 2.1, en su análisis topológico de la red, realiza el cálculo de múltiples parámetros de centralidad para cada nodo, resultando útil en la identificación de hubs y bottlenecks.

Para la clasificación de un nodo como hub se tuvieron en cuenta los siguientes parámetros de centralidad: degree, eigenvector, eccentricity, centroid value, radiality y closeness. Aquellos nodos que presentaban valores más altos que la media global para cada uno de estos parámetros fueron considerados como hubs. Para la clasificación de un nodo como bottleneck se tuvieron en cuenta los siguientes parámetros de centralidad: betweenness y bridging. Igual que lo anterior, aquellos nodos que presentaban valores más altos que la media global para cada uno de estos parámetros fueron considerados como bottlenecks. Para la definición exacta de cada uno de estos parámetros de centralidad y las

ecuaciones utilizadas para su cálculo se puede revisar el manual de CentiScape en el siguiente link:

<http://www.cbmc.it/~scardonig/centiscape/CentiScaPefiles/CentralitiesTutorial.pdf>

Luego, se realizó un análisis de ontología de los genes que codifican para las proteínas identificadas topológicamente como hubs y bottlenecks. Con este análisis se buscó identificar los procesos biológicos en los cuales estaban implicados los nodos mencionados. Para este análisis se usó el programa PANTHER asociado a la iniciativa Gene Ontology Consortium.

#### **4.2.2 Red de interacción fármaco-proteína**

Una vez fue analizada la red de interacción proteína-proteína e identificados los nodos más importantes, se incluyeron en esta red las dianas farmacológicas obtenidas por el método de homología. Estas dianas fueron conectadas a la red a través de un eje de interacción con la proteína del parásito con la cual presentan homología. La red obtenida luego de esta inclusión fue denominada red de interacción fármaco-proteína, pues, las dianas farmacológicas tienen asociados fármacos que tienen como potencial segundo uso actividad anti-*Leishmania*.

Posterior a esto, se buscó en la base de datos KEGG las rutas en las cuales se encontraban implicadas las proteínas de *Leishmania* homólogas a las dianas farmacológicas y se identificaron dentro la red. De esta forma se determinó en que parte de la red se ubicaba la proteína, la ruta en la cual participa y que tipo de proteínas componen esta ruta (hubs, bottlenecks o ninguno de estos).

#### **4.3 Simulaciones Farmacocinéticas**

Con el ánimo de obtener información sobre las concentraciones plasmáticas alcanzadas por los medicamentos obtenidos por el método de análisis homología (segundos usos predichos) se realizó una búsqueda exhaustiva de modelos de farmacocinética poblacional. Los modelos tenían que incluir, al

menos, los parámetros farmacocinéticos más importantes para realizar simulaciones (CL, Vd, Ka) y debían incluir la variabilidad intersujeto de estos parámetros para simular de forma más acertada las diferencias entre las concentraciones de fármaco alcanzadas de un paciente a otro. Para las simulaciones se utilizó el software ADAPT 5, el cual es libre y fue desarrollado en la Universidad de Southern California.

Inicialmente se realizaron dos simulaciones con el mismo esquema de dosificación del estudio con el cual se determinó el modelo farmacocinético que mejor describe el comportamiento de la concentración plasmática del fármaco. En una de estas simulaciones se asumía que los datos seguían una distribución normal y en la otra se asumía una distribución log-normal. Luego, se comparaban los resultados obtenidos con ambas distribuciones y se seleccionaba aquella distribución que mejor se ajustara al comportamiento de los datos. La distribución de mejor ajuste era aquella en la que los parámetros farmacocinéticos, después de la simulación, fueran más similares a los parámetros iniciales del modelo.

Posterior a esto, se variaban los esquemas de dosificación, aumentando la dosis y disminuyendo los intervalos entre una dosis y otra, buscando alcanzar concentraciones plasmáticas de fármaco más altas, pero teniendo cuidado de no alcanzar niveles que claramente serían tóxicos para el paciente.

Una vez obtenidos los perfiles de concentración plasmática se identificaron las concentraciones plasmáticas más altas alcanzadas por cada medicamento con el fin de compararlas con las concentraciones de fármaco requeridas para matar el 50% de los parásitos ( $CE_{50}$ ). Aquellos fármacos que alcanzaran concentraciones plasmáticas más altas que la  $CE_{50}$  podrían ser efectivos contra el parásito y se perfilarían como candidatos a ensayos clínicos.

Como control positivo de esta hipótesis se realizaron simulaciones para dos fármacos utilizados actualmente en el tratamiento de la leishmaniasis: miltefosina y anfotericina B.

### 4.3 Predicción de variables toxicológicas para compuestos

Para la selección y predicción de variables toxicológicas se partió de una lista de compuestos que aún no son medicamentos aprobados y obtenida de un proyecto previo realizado en el PECET. En este proyecto se realizó un docking molecular masivo en cual se intentaron acoplar casi 600.000 compuestos con 53 proteínas de *Leishmania* de las cuales se posee la estructura tridimensional obtenida por difracción de rayos X y son de interés como potenciales blancos farmacológicos. De los resultados del docking se seleccionaron los primeros 1000 compuestos con mejor puntuación para realizar la predicción. Para esta predicción fue utilizado el software comercial ADMET Predictor, el cual cuenta con modelos predictivos para más de 140 variables entre fisicoquímicas, farmacocinéticas y toxicológicas. Si bien se realizó la predicción de todas estas variables para los 1000 compuestos obtenidos por docking, para efectos de selección en este trabajo fueron utilizadas 6 variables toxicológicas las cuales son presentadas en la tabla 3. Además, en esta tabla se presentan los criterios de selección utilizados.

**Tabla 3.** Variables toxicológicas seleccionadas con su validación y criterios de selección de compuestos

Variable	Concordancia <sup>a</sup>	Correctos <sup>a</sup>	Total <sup>a</sup>	Criterios
Cardiotoxicidad	88.4%	717	811	No= $CI_{50} > 10 \mu M$
Fosfolipidosis	96.8%	448	463	No tóxico
Genotoxicidad	80.3%	897	1117	No tóxico
Dosis Máxima recomendada	83.0%	831	1001	NOEL > 3,16 mg/kg día
Toxicidad endocrina (Rec. Estrógenos)	90.4%	161	178	No tóxico
Irritación piel	91.0%	213	234	No sensible

<sup>a</sup>. La validación de cada modelo predictivo se realiza con un set de compuestos de los que se conoce el resultado de la variable a predecir. Este set es analizado con el programa y se compara las predicciones obtenidas con el valor real. De esta forma se determina la concordancia, que corresponde al porcentaje de compuestos predichos correctamente del total de compuestos evaluados.

Los modelos predictivos de las variables seleccionadas son modelos clasificatorios que ubican cada compuesto en un grupo determinado de acuerdo a su estructura molecular. En el caso de las variables toxicológicas seleccionadas la respuesta obtenida es binaria, permitiendo clasificar así los compuestos como “tóxico” o “no tóxico”. Estos modelos clasificatorios son generados a partir de redes neuronales que son entrenadas con datos reales de estructuras químicas conocidas y evaluadas para la variable de interés, generando así, espacios químicos más o menos diversos para cada variable. Las predicciones arrojadas por estos modelos solo pueden ser válidas si la estructura del compuesto evaluado se encuentra dentro del espacio químico en el que la red fue entrenada, entendiendo como espacio químico el conjunto de estructuras moleculares que presentan una similitud (con los compuestos utilizados para la construcción del modelo) suficiente para que las predicciones realizadas sean aplicables. Por esto, lo primero que se verificó al realizar predicciones fue que el compuesto evaluado se encontrara dentro del espacio químico de cada modelo.

***El modelo de cardiotoxicidad*** expresa la afinidad inhibitoria del compuesto sobre los canales iónicos de potasio codificados por el gen hERG y responsables de la repolarización del potencial de acción en el tejido cardiaco. Este modelo clasifica los compuestos en dos grupos: “SI” y “NO”. “SI” indica que la concentración inhibitoria 50 ( $CI_{50}$ ) es menor o igual que 10  $\mu$ M, mientras que, “No” indica una  $CI_{50}$  mayor que 10  $\mu$ M y con lo cual se considera que este compuesto representa menor riesgo de cardiotoxicidad.

***La fosfolipidosis*** es un desorden en el almacenamiento lisosomal caracterizado por la acumulación de fosfolípidos en los tejidos y conllevando a muerte celular. Se ha documentado fosfolipidosis asociada al uso de medicamentos. Este modelo clasifica los compuestos en los grupos “Toxico” o “No toxico” acorde a su probabilidad o no de desencadenar este desequilibrio.

El modelo de **genotoxicidad** clasifica los compuestos también en los grupos “Toxico” o “No toxico” acorde a la probabilidad que estos generen o no aberraciones cromosómicas.

El modelo de **dosis máxima recomendada** clasifica los compuestos en “encima” o “debajo” de acuerdo a la dosis de nivel de efecto no observable (NOEL, por sus siglas en inglés). Si esta dosis es mayor que 3.16 mg/kg/día, el compuesto se clasifica el grupo “encima” y se considera poco tóxico, por el contrario, si el compuesto es clasificado en el grupo “debajo” su dosis NOEL será menor o igual que 3.16 mg/kg/día y tendrá una mayor probabilidad de generar efectos adversos a bajas dosis.

**Toxicidad endocrina** es un modelo que clasifica los compuestos en los grupos “Toxico” o “No toxico” de acuerdo a la probabilidad de que estos interaccionen o no con el sitio activo de los receptores de estrógenos y andrógenos.

Por último, el modelo de **irritación en la piel** clasifica según la probabilidad de que un compuesto desencadene una reacción cutánea alérgica. Los grupos en este caso son: “sensible” y “No sensible”.

Cada predicción realizada por estos modelos trae asociado un estimado de confianza en porcentaje que expresa la probabilidad de que la predicción arrojada sea correcta, sin importar el grupo en el cual ha clasificado. Para efectos de selección, en este trabajo se consideraron válidas las predicciones con un estimado de confianza mayor al 60%. Luego de realizar la predicción para los mil compuestos, se seleccionaron aquellos que estuvieran dentro del espacio químico de todos los modelos, que cumplieran con los criterios presentados en la Tabla 3 y que estuvieran acompañados de un estimado de confianza mayor al 60% como se mencionó previamente.

#### **4.4 Modelo de selección de compuestos para evaluación *in vivo***

Después de ejecutar todos los pasos metodológicos ya mencionados, teniendo en cuenta la información generada por ellos y su utilidad para la priorización de moléculas a evaluar, fue diseñado un modelo en forma de árbol de decisión que consolida todos los criterios de selección mencionados en cada uno de las etapas del procedimiento y que fueron definidos como los más adecuados para elegir moléculas con una mayor probabilidad de tener éxito en ensayos *in vitro* e *in vivo*.

## 5. RESULTADOS

### 5.1 Medicamentos con potencial actividad anti-Leishmania

La búsqueda de homología entre proteínas del parásito y blancos farmacológicos fue realizada para 5 especies de *Leishmania*: *L. mexicana*, *L. major*, *L. infantum*, *L. braziliensis* y *L. panamensis*. En la tabla 4 se presenta el número de hits obtenidos para cada especie estudiada. El mayor número de hits luego de aplicar los filtros descritos en metodología, se encontró para *L. major*, con 285 hits, seguida por *L. braziliensis* con 195 hits, mientras que el número de hits para las otras tres especies evaluadas fue algo similar, y estuvo en un rango de 158 a 176. En el anexo I se presentan los valores obtenidos en cada criterio de selección para cada hit y los fármacos aprobados que actúan sobre él en caso de poseerlos.

**Tabla 4.** Numero de hits encontrados por especie de *Leishmania*

<b>Especie</b>	<b># de Hits</b>
<i>L. braziliensis</i>	195
<i>L. major</i>	285
<i>L. infantum</i>	160
<i>L. mexicana</i>	176
<i>L. panamensis</i>	158

Cada hit corresponde a una proteína del parásito que presenta homología con una proteína que se conoce es una diana terapéutica. Es importante resaltar que no necesariamente todos los hits (proteínas) tienen un único medicamento asociado, sino que un hit puede tener más de un medicamento asociado como se muestra en la tabla 6. Usando DrugBank, se revisaron cada uno de los hits y se realizó una lista con los fármacos que actuaban sobre estas dianas y luego se seleccionaron aquellos fármacos que tenían relación contra proteínas

presentes en al menos dos especies de las 5 que fueron evaluadas. Al realizar esto, se obtuvo una lista de 33 medicamentos con una potencial actividad leishmanicida y esta lista de medicamentos es presentada en la tabla 5.

**Tabla 5.** Medicamentos con potencial actividad anti-Leishmania determinados por análisis de homología

Ácido acetilsalicílico	Docetaxel	Nicardipino
Ácido Etidronico	Felodipino	Paclitaxel
Albendazol	Fenoxybenzamina	Perfenazina
Alendronato	Flufenazina	Podofilox
Cabazitaxel	Griseofulvina	Rifabutin
Ciclosporina	Ixabepilone	Tenofovir
Cincocaína	Lamivudina	Tiludronato
Cladribina	Loperamida	Trifluoperazina
Cloroquina	Mebendazol	Vinblastina
Clorpromazina	Metformina	Vincristina
Colchicina	Nedocromil	Vinorelbina

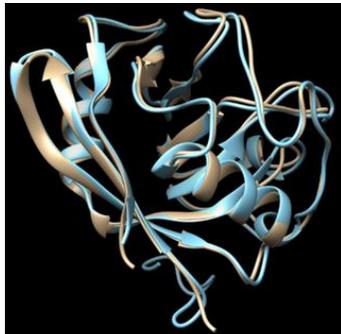
Además, con esta metodología también se identificaron 10 proteínas principales donde se concentraba la acción de los 33 medicamentos. En la tabla 6 se presentan estas proteínas y la ruta metabólica o biosintética en la cual se encuentran involucradas.

**Tabla 6.** Proteínas sobre las que actúan los medicamentos identificados y rutas implicadas

<b>Medicamentos</b>	<b>Proteína</b>	<b>Vía implicada</b>
Clorpromazina, Cincocaina, Nicardipino, Flufenazina, Trifluoperazina, Loperamida, Perfenazina, Fenoxibenzamina, Felodipino	Calmodulina	Unión Calcio, Vía señalización fostadil inositol
Ácido acetilsalicílico	HSP70	Respuesta a estrés
Cladribina	Ribonucleótido difostato reductasa	Metabolismo de purinas y pirimidinas
Rifabutin, Nedocromil	HSP90	Plegado de proteínas, respuesta a estrés
Cloroquina	Glutation S-transferasa	Metabolismo de glutatión y compuestos exógenos
Ciclosporina	Ciclofilina	Isomerización y plegado de proteínas
Albendazol, Mebendazol, Vinblastina, Vincristina, Podofilox, Cabazitaxel, Griseofulvina	$\alpha$ -tubulina	Movimiento micro túbulos, Catabolismo GTP, Polimerización proteínas
Ixabepilone, Paclitaxel, Docetaxel, Colchicina, Vinorelbina, Griseofulvina, Albendazol, Mebendazol	$\beta$ -tubulina	Movimiento micro túbulos, Catabolismo GTP, Polimerización proteínas
Metformina	Protein quinasa (5-AMP activada)	No claramente establecida (regulación de metabolismo energético celular)
Alendronato, Tiludronato, Acido etidróico	ATP-asa	Síntesis de ATP
Lamivudina, Tenofovir	Nucleósido difosfato quinasa	Metabolismo de purinas y pirimidinas

Al observar las estructuras moleculares de los fármacos obtenidos, se aprecia que los grupos de fármacos que actúan sobre una misma proteína presentan similitud estructural entre ellos como en el caso de Alendronato, Tiludronato, Acido etidróico. O el caso del albendazol, mebendazol y griseofulvina, que interesantemente son los únicos en presentar hits con dos proteínas diferentes, sin embargo esto puede ser explicado por la relación existente entre la  $\alpha$ -tubulina y  $\beta$ -tubulina, tanto funcional como estructuralmente. Caso contrario se observa para rifabutin y nedocromil, los cuales teniendo una estructura molecular completamente diferente son asociados a la misma proteína, HSP90.

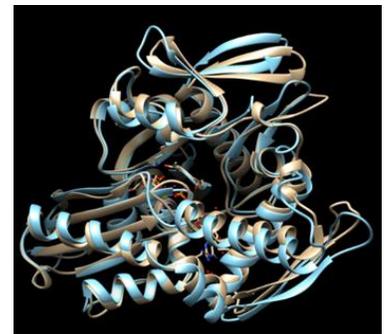
Dado que BLAST es una herramienta que compara la secuencia primaria, en este caso la secuencia de los aminoácidos, y además compara secciones de las proteínas dado que usa un algoritmo de alineamiento local, quisimos saber si existía además una conservación estructural entre la proteína diana del medicamento y las proteínas de *Leishmania* relacionadas. Para esto fue necesario realizar la modelación tridimensional y validar los modelos de las proteínas del parásito dado que ninguna de las proteínas del parásito encontradas por esta estrategia, tenía estructura tridimensional resuelta experimentalmente y depositada en PDB a diferencia de las proteínas dianas de los medicamentos, que la mayoría tenían estructura tridimensional depositada en PDB. Como parámetro de similitud se utilizó el valor RMSD (del inglés, Root-mean-square deviation of atomic position) que indica la distancia promedio entre cada átomo al sobreponer ambas estructuras, principalmente de los átomos del andamiaje de la proteína. En general para todas las proteínas comparadas tridimensionalmente se obtuvo una buena similitud, con RMSD oscilando entre 0,639 y 1,390, lo cual indica que las proteínas son muy similares estructuralmente. En la figura 3 se presentan 6 de estas comparaciones estructurales con sus respectivos RMSD.



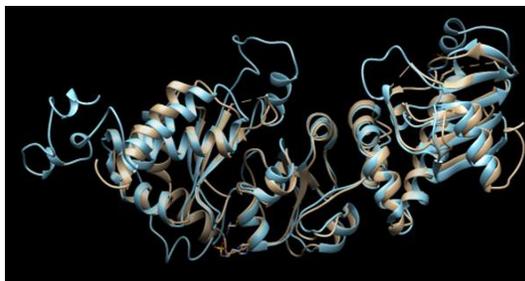
Ciclofilina  
RMSD: 0,639



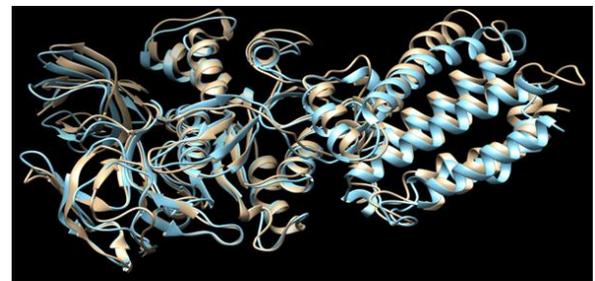
Calmodulina  
RMSD: 1,390



HSP70  
RMSD:1,047



HSP90  
RMSD:1,217



ATPasa  
RMSD:1,041

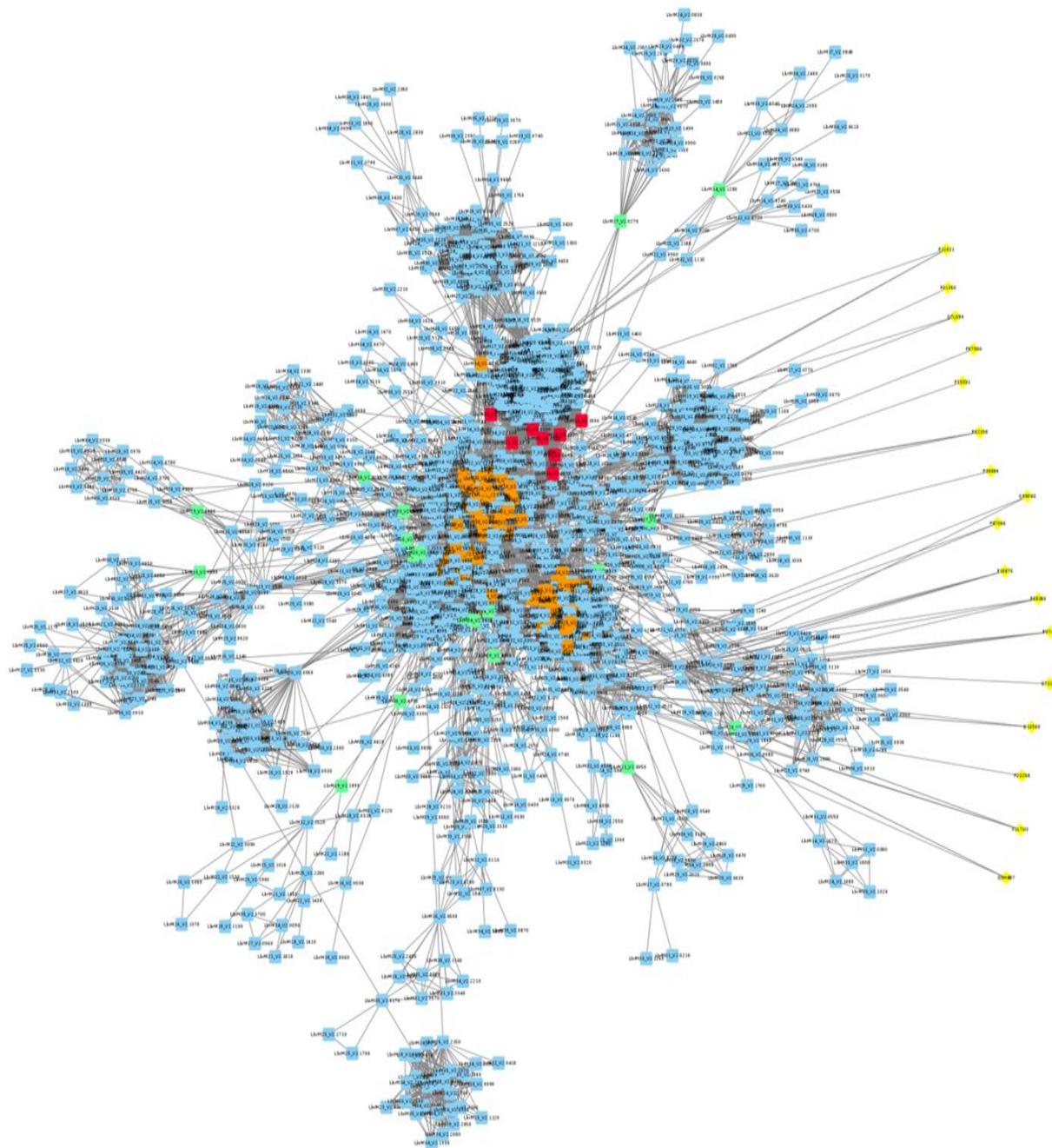
**Figura 3.** Comparación estructura 3D entre proteínas blanco de medicamento con la respectiva proteína homóloga del parásito. En color azul está representada la proteína de *Leishmania* y color dorado está representada la proteína blanco (todas ellas de humano) de un medicamento anotado en Drugbank.

Por último, se obtuvieron también otros medicamentos que no cumplieron con la totalidad de los criterios de selección definidos y por tanto no se tuvieron en cuenta para continuar siendo evaluadas en este trabajo pero que podrían llegar a ser interesantes para trabajos posteriores; algunos de estos son: Ribavirin, cromoglicato de sodio, homoharringtonina, clorzoxazona, ciprofloxacina, ácido valproico, tadalafilo, clotrimazol, miconazol, sirolimus, amitriptilina. Además, se obtuvieron algunos aminoácidos, vitaminas y cofactores que por su bajo potencial

terapéutico contra el parásito también fueron excluidos. En este grupo están: SAM, FAD, NADH, biotina, vitamina E, cianocobalamina prolina, serina, valina, entre otros. En el anexo I se detalla la lista completa.

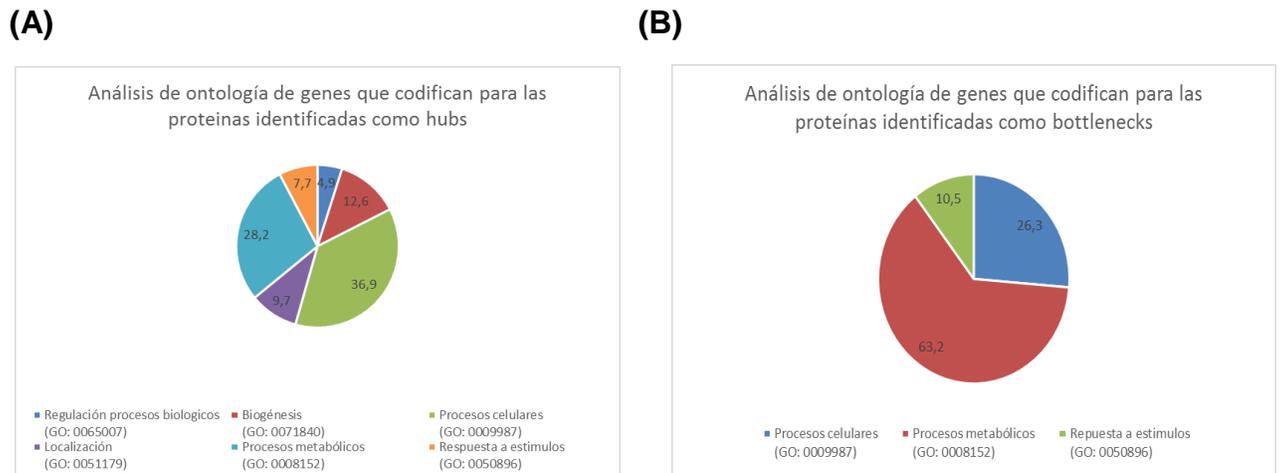
## **5.2 Redes de interacción**

Para la construcción de las redes de interacción fármaco-proteína, se utilizó como base una red de interacción de *Leishmania braziliensis* generada en el PECET previamente. Esta red cuenta 1292 nodos (proteínas) y 27.976 interacciones entre ellos. Para la visualización de la red fue utilizado el programa Cytoscape 3.0.0 y usando su aplicativo CentiScape 2.1 se realizó el análisis topológico. Al correr este análisis se pudieron identificar 77 “hubs”, que corresponden a nodos muy interconectados y por tanto ocupan posiciones centrales dentro de la red. La identificación de estos nodos fue realizada de acuerdo a los valores obtenidos en los parámetros indicados en la metodología. De los 77 hubs, 8 tuvieron valores considerablemente más altos que los demás y son representados en la figura 4 en color rojo, los 69 restantes se representan en color naranja. Además, con este análisis se pudieron identificar 19 “bottlenecks”, que corresponden a nodos que no tienen una alta interconexión, sin embargo, resultan importantes para la interconexión entre grupos de nodos. Estos son representados en color verde dentro de la red (figura 4). La lista completa de hubs y bottlenecks identificados se encuentra en el anexo III.



**Figura 4. Red de interacción fármaco-proteína.** En azul se representan los nodos estándar, en rojo y naranja los hubs, en verde los bottlenecks y las proteínas diana de medicamentos obtenidas por análisis de homología, son representadas como nodos amarillos, estos últimos pueden tener asociados uno o más fármacos.

Luego, con el ánimo de determinar qué tan importantes podrían ser para el parásito los hubs y bottlenecks hallados por topología se llevó a cabo un análisis de ontología de genes, identificando de esta forma los procesos biológicos en los cuales están implicados. Los resultados son presentados en la **figura 5**.



**Figura 5.** Análisis de ontología de los genes que codifican para las proteínas identificadas como hubs (A) y bottlenecks (B) en la red de interacción.

En el caso de los genes que codifican para las proteínas identificadas como hubs, el término “procesos celulares” incluye la mayor cantidad de genes con el 36.9%, este término puede dividirse a su vez en los siguientes términos: ciclo celular (75%), citocinesis (12.5%), movimiento celular (12.5%). El segundo mayor porcentaje corresponde al término “procesos metabólicos” en: biosíntesis (16.9%), catabolismo (13.8), metabolismos de compuestos nitrogenados (18.5%), procesos que implican grupos fosfato (7.7%), metabolismo primario (43.1%). Estos dos grupos que representan la mayoría de genes analizados incluyen procesos de clara importancia para la supervivencia y viabilidad de cualquier sistema biológico, lo cual les confiere interés como posibles blancos farmacológicos.

Para los genes que codifican para proteínas identificadas como bottlenecks, el término “procesos celulares” puede dividirse a su vez en los siguientes términos: ciclo celular (50%), comunicación celular (50%). El término “procesos metabólicos” en: biosíntesis (13%), metabolismos de compuestos nitrogenados

(13%), procesos que implican grupos fosfato (13%), metabolismo primario (43.5%), procesos que implican coenzimas (4.3%), generación de energía (13%). Con este análisis se observó que la mayoría de las proteínas identificadas como bottlenecks son codificadas por genes implicados en procesos metabólicos, esto sugiere que estas proteínas podrían estar relacionadas con la interconexión de diferentes rutas metabólicas.

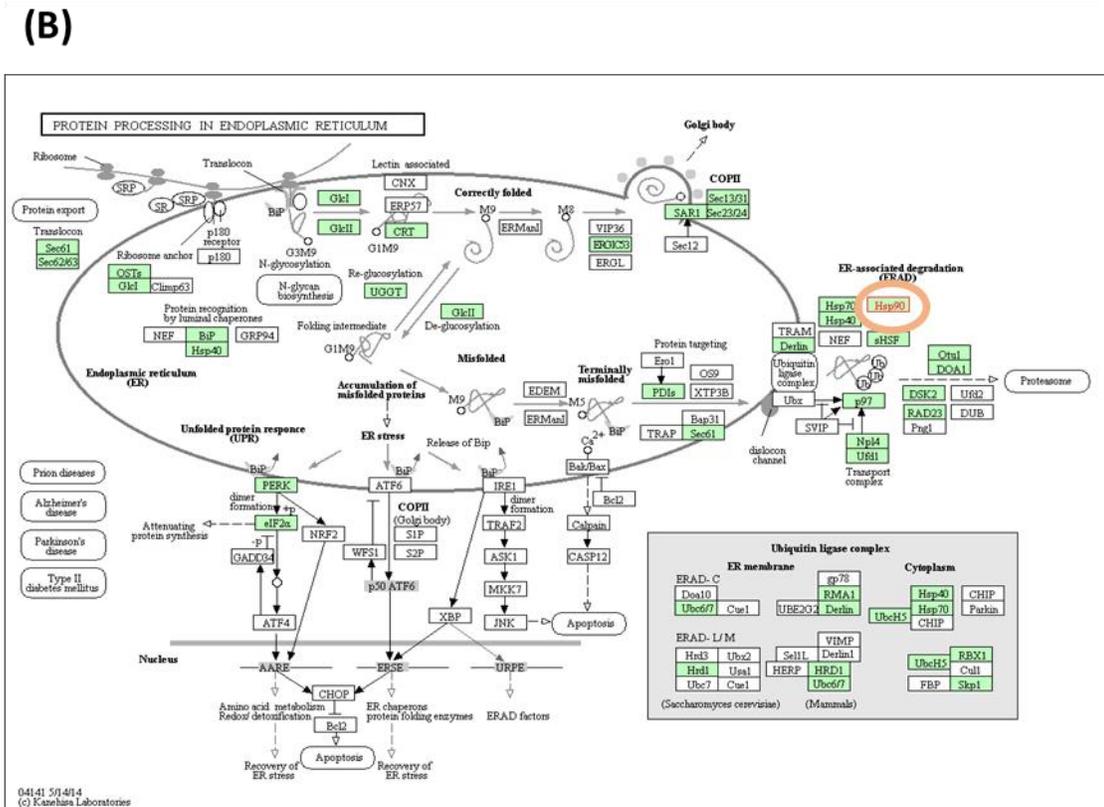
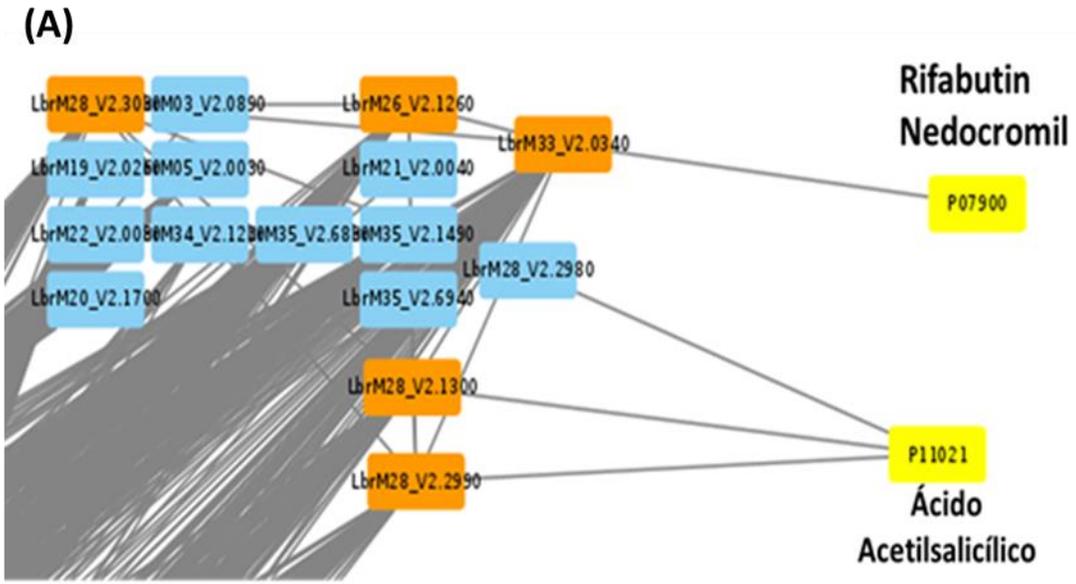
Después de realizar este análisis, se incluyeron en la red las proteínas diana de fármacos que fueron identificadas por el método de homología. Estas proteínas fueron incluidas en la red a través de un eje de interacción que las unía con las proteínas del parásito con las cuales presentaban homología y son representadas en la red en color amarillo (Figura 4), recordemos que estas proteínas tienen asociados los medicamentos obtenidos en el análisis de homología. Además, es importante tener en cuenta que algunos de estos nodos amarillos representan una misma proteína que estableció relación con dos o más proteínas de *Leishmania*. Esto debido a las diferentes isoformas que pueden presentar estas proteínas. También, se debe tener presente que sobre una misma proteína puede actuar más de un fármaco. Para aclarar esto, en la tabla 7 se presentan los nodos adicionados a la red, la proteína a la cual corresponden, la proteína con la cual presentan homología y los fármacos que actúan sobre ellas. En esta tabla podemos observar, por ejemplo, que el Nodo F1L7U3 corresponde a una diana farmacológica que tiene asociado el fármaco albendazol, su nombre es  $\beta$ -tubulina y presenta homología con las siguientes proteínas de *Leishmania braziliensis*: LbrM.33.0920, LbrM.33.0930, LbrM.33.0960, LbrM.21.2150; también se observa que estas proteínas homologas corresponden a nodos estándar, es decir, no son hubs, ni bottlenecks. De los 33 medicamentos obtenidos por homología, 3 no pudieron ser incluidos en la red de interacción debido a que la proteína diana a la cual están asociados presentan homología con proteínas del parásito que no se encontraban incluidas en la red. Estos tres medicamentos son: Metformina, cloroquina y ciclosporina.

**Tabla 7.** Dianas farmacológicas incluidas en la red y sus fármacos asociados

<b>Diana</b>	<b>Medicamento asociado</b>	<b>Nombre Proteína</b>	<b>Homólogo en el parásito</b>	<b>Tipo de nodo</b>
F1L7U3	albendazol	$\beta$ -tubulina	LbrM.33.0920 LbrM.33.0930 LbrM.33.0960 LbrM.21.2150	Estándar
P07437	vinblastina, vincristina, vinorelbina, colchicina, podofilox	$\beta$ -tubulina	LbrM.33.0920 LbrM.33.0930 LbrM.33.0960 LbrM.21.2150	Estándar
P07900	rifabutin, nedocromil	HSP90	LbrM.33.0340	Hub
P10875	griseofulvina	$\beta$ -tubulina	LbrM.33.0920 LbrM.33.0930 LbrM.33.0960 LbrM.21.2150	Estándar
P11021	ácido acetilsalicílico	HSP70	LbrM.28.2990 LbrM.28.2980 LbrM.28.1300	Hub
P15531	tenofovir, lamivudina	Nucleósido difosfato quinasa	LbrM.32.3210	Estándar
P23258	vinblastina	$\alpha$ -tubulina	LbrM.25.0840	Estándar
P31350	cladribina	ribonucleósido difosfato reductasa	LbrM.27.2230	Estándar
P38606	alendronato, tiludronato, etidronato	ATPasa	LbrM.20.3260	Estándar
P62158	loperamida, cincocaina, perfenazina, nicardipino, fenoxibenzamina, felodipino, clorpromazina, flufenazina, trifluoperazina	calmodulina	LbrM.09.0960 LbrM.09.0980 LbrM.09.0970	Hub
P68366	cabazitaxel, podofilox, vincristina	$\alpha$ -tubulina	LbrM.13.0190 LbrM.13.0200 LbrM.29.2700	Estándar
P87066	griseofulvina	$\alpha$ tubulina	LbrM.13.0190 LbrM.13.0200	Estándar
Q13509	ixabepilone	$\beta$ -tubulina	LbrM.33.0920 LbrM.33.0930 LbrM.21.2150	Estándar
Q71U36	albendazol, mebendazol, vinblastina	$\alpha$ -tubulina	LbrM.13.0190	Estándar
Q7LG56	cladribina	ribonucleósido difosfato reductasa	LbrM.22.1170 LbrM.27.2230	Estándar
Q9H4B7	docetaxel, paclitaxel, colchicina, cabazitaxel	$\beta$ -tubulina	LbrM.33.0920 LbrM.33.0960 LbrM.21.2150	Estándar
Q9NY65	griseofulvina	$\alpha$ -tubulina	LbrM.13.0190	Estándar

Posterior a esto, usando la base de datos KEGG, se procedió a mapear dentro de la red las vías metabólicas en las que estas proteínas dianas o blancos de medicamentos participan. Prestando especial interés a aquellas que interaccionaban con hubs o bottlenecks. Se observó que ninguna diana presentaba homología con algún bottleneck, sin embargo, tres dianas presentaron homología con hubs, estas son: P07900 que representa a HSP90 y tiene asociados los fármacos nedocromil y rifabutin; P11021 que representa a HSP70 y tiene asociado al ácido acetilsalicílico y P62158 que representa a la calmodulina y tiene asociados 9 medicamentos diferentes que son presentados en la tabla 7.

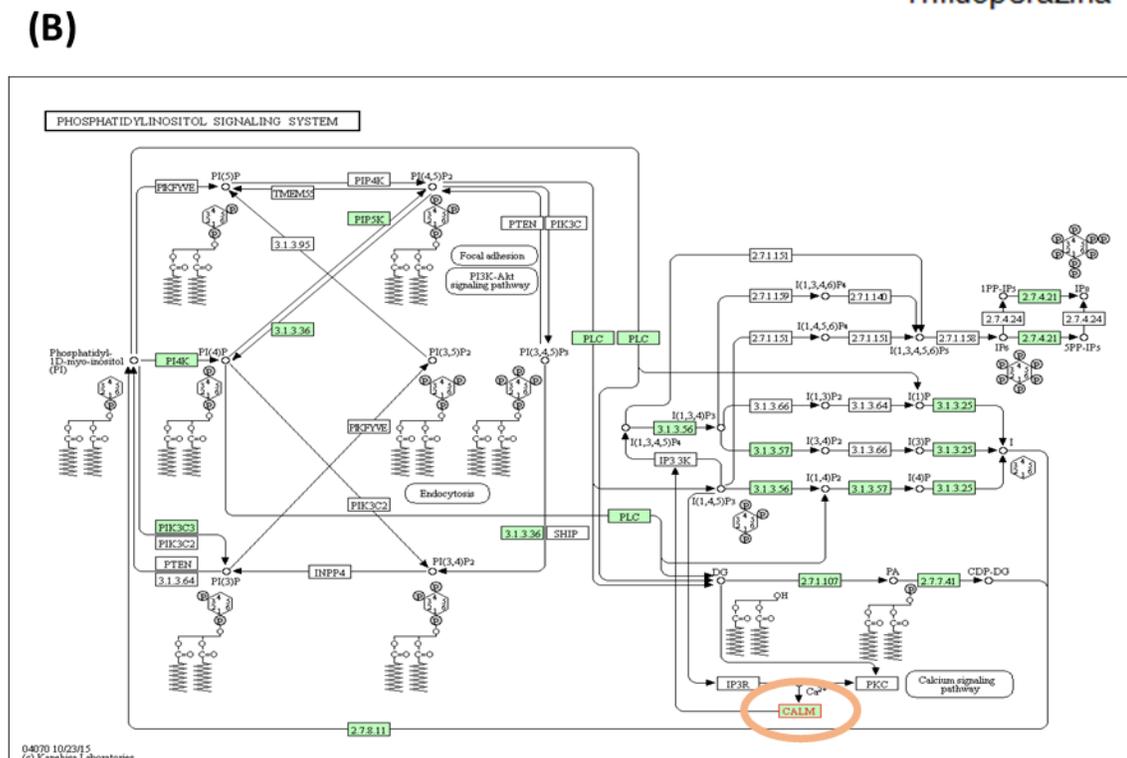
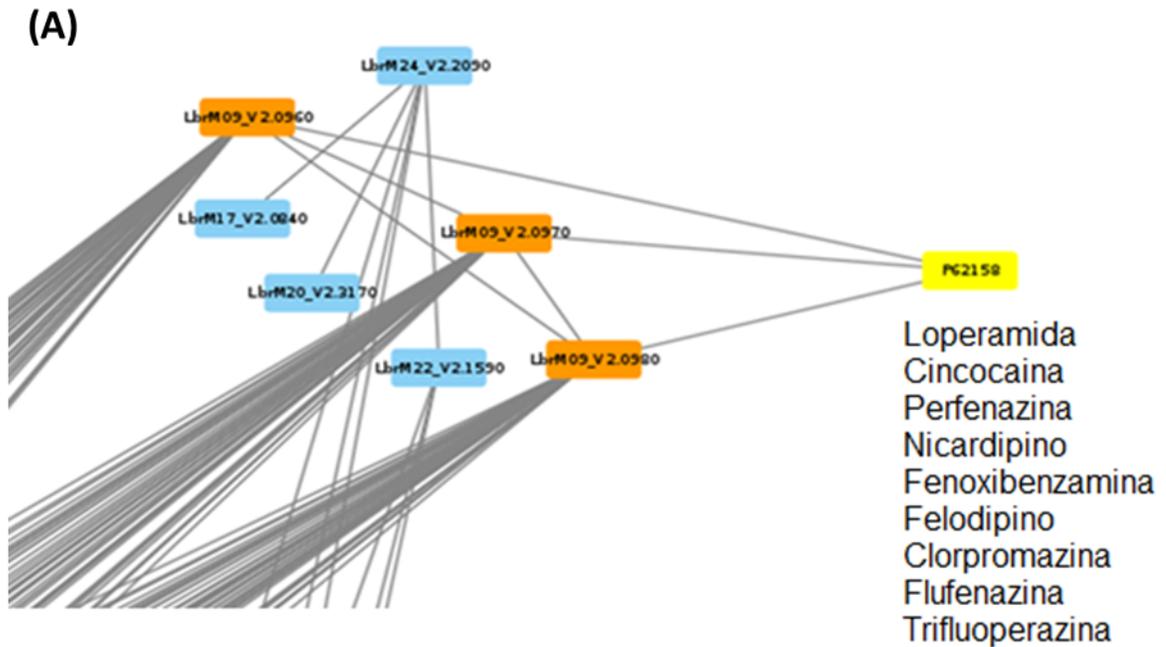
En la figura 6 (A) se presenta, por ejemplo, el mapeo de la ruta del procesamiento de proteínas dentro del retículo endoplasmático. En la cual están incluidos los medicamentos rifabutin y nedocromil que potencialmente interactúa con la HSP90 y están representados por el nodo P07900. En esta misma ruta se encuentra el ácido acetilsalicílico asociado al nodo P11021 que representa a la HSP70. Se observa en esta figura que los homólogos de ambas proteínas (HSP90 y HSP70) fueron clasificados por el análisis topológico como hubs y por esto están representados en color naranja. Este hecho hace interesantes estos medicamentos y podrían ser incluidos como candidatos a evaluaciones *in vitro*. Además, se podría pensar que el uso combinado de estos podría presentar una interacción positiva en el tratamiento contra el parásito, pues, se estaría atacando más de una proteína en una misma ruta importante para el parásito. En la figura 6 (B) se observa completa la ruta del procesamiento de proteínas en el retículo endoplasmático. Esta fue tomada de la base de datos KEGG y en ella puede observarse la ubicación de HSP70 y HSP90 resaltadas en un ovalo naranja.



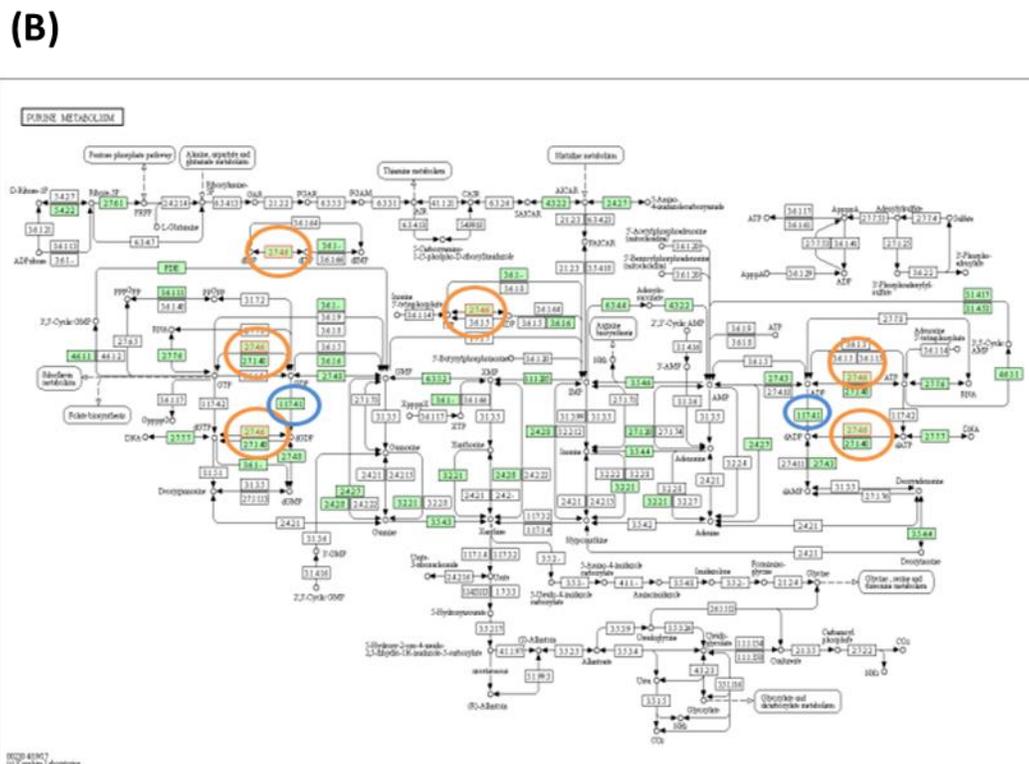
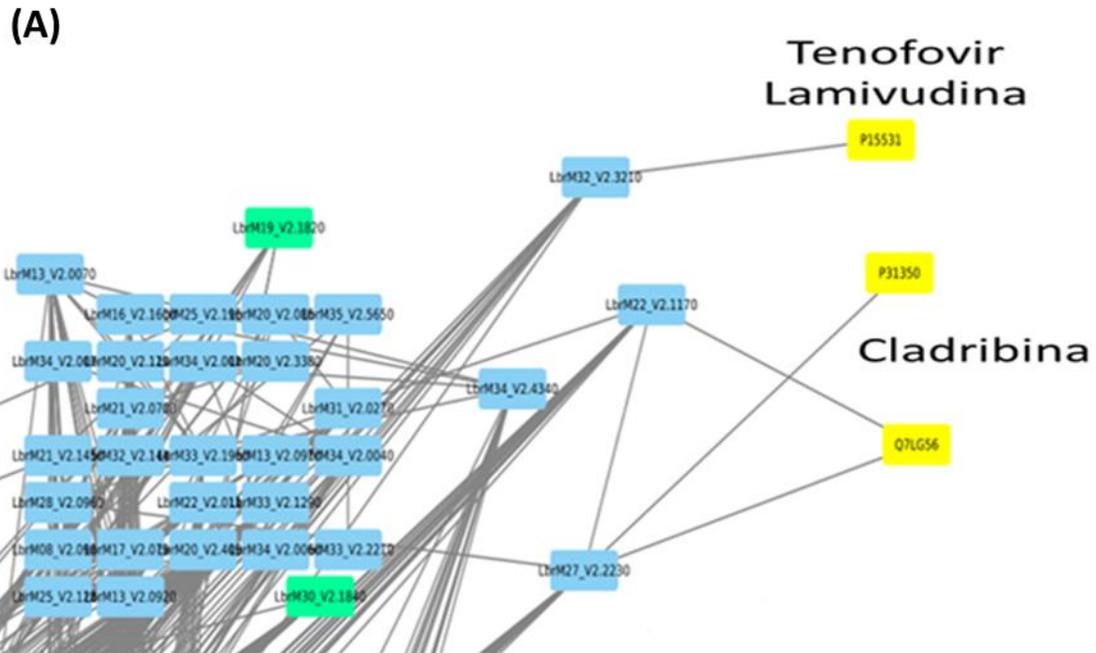
**Figura 5.** Ruta del procesamiento de proteínas en el retículo endoplasmático en la que están implicados los nodos P07900 y P11021. En la red construida (**panel A**) y en la base de datos KEGG (**Panel B**).

Otra de las vías mapeadas donde participan proteínas identificadas como dianas terapéuticas, se presenta en la figura 7. En esta vía se representa el sistema de señalización del fosfatidil inositol. En la parte (A) Se observa que el nodo P62158 que representa los fármacos loperamida, cincocaina, perfenazina, nocardipino, fenoxibenzamina, felodipino, clorpromazina, flufenazina y trifluoperazina, interactúa con tres isoformas de la calmodulina. Teniendo en cuenta esto y los valores obtenidos por homología, hace que todos estos medicamentos sean interesantes en la evaluación de medicamentos contra *Leishmania*. También en la figura 7 parte (B) se observa completa la vía de señalización de fosfatidil inositol tomada de la base de datos KEGG. En ella esta resaltada la calmodulina en un óvalo naranjado.

Finalmente, en la figura 8 se presenta la vía de síntesis de las purinas donde el nodo P15531, como se mostró en la tabla 7 representa a tenofovir y lamivudina que interactúan con la nucleósido difosfato quinasa y los nodos P31350 y Q7LG56 representan a cladribina e interactúan con dos isoformas de la ribonucleosido difosfato reductasa. En el mapeo de esta vía se observa que los fármacos no interactúan de forma directa sobre algún nodo clasificado topológicamente como hub o bottleneck, sin embargo, en el contexto biológico claramente estas proteínas son importantes para el parásito y la vía completa es vital para la viabilidad del mismo, por eso, estos fármacos resultan interesantes y podrían ser candidatos para evaluación experimental. Aunque no se muestra gráficamente, estos tres fármacos actúan también en la vía de síntesis de las pirimidinas afectando directamente los procesos de replicación genética del parásito.



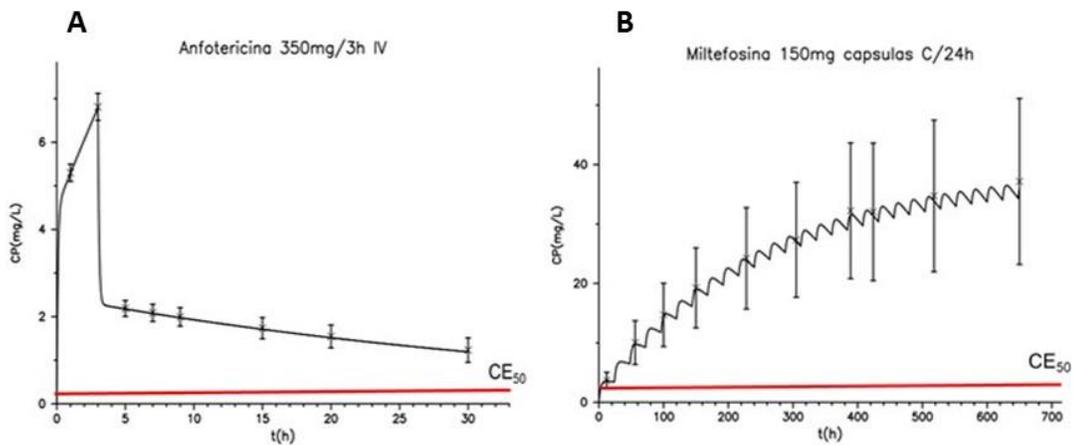
**Figura 6.** Vía de señalización del fosfatidil inositol, donde se observa que está implicado el nodo P62158 y los fármacos asociados a él (**Panel A**). Además, se muestra la vía de señalización completa tomada de KEGG (Calmodulina dentro del ovalo naranja) (**Panel B**).



**Figura 7. Vía de síntesis de las purinas.** Se observa a los fármacos tenofovir y lamivudina asociados al nodo P15531 y Cladribina asociado a los nodos P31350 y Q7LG56 (Panel A) y la vía completa tomada de KEGG, En color naranja se muestra donde actúa la enzima nucleósido difosfato quinasa (P15531) y en azul donde actúa la ribonucleosido difosfato reductasa (P31350 y Q7LG56) (Panel B).

### 5.3 Simulaciones Farmacocinéticas

Para los 33 medicamentos promisorios como agentes anti-*Leishmania* y obtenidos por homología, se buscaron modelos de farmacocinética poblacional. De ellos fueron encontrados 11 medicamentos con modelos confiables y con los datos requeridos para realizar las simulaciones. Además, fueron realizadas simulaciones para dos fármacos que son utilizados actualmente en el tratamiento de la leishmaniasis: Anfotericina B y miltefosina. Estos dos fueron utilizados como control positivo de la hipótesis propuesta de que una concentración plasmática de fármaco mayor que la  $CE_{50}$  contra el parásito podría conducir a una efectividad del tratamiento en humanos. En la figura 9 se presentan los resultados obtenidos para estos dos fármacos.



**Figura 8. Simulaciones control.** *Fármacos utilizados en el tratamiento de leishmaniasis. Anfotericina B, simulada con un modelo bicompartimental luego de administrar una dosis 350 mg en una infusión parenteral de dos horas en pacientes con trasplante de medula ósea (Panel A). Miltefosina, simulada con un modelo bicompartimental en pacientes con leishmaniasis con una dosificación de 150 mg/día vía oral durante 28 días (Panel B).*

En la figura 9 se observa que, para ambas simulaciones, la concentración plasmática rápidamente supera la  $CE_{50}$  y se mantiene por encima de esta todo el

tiempo simulado. Este hecho podría explicar la efectividad de estos dos medicamentos en el tratamiento de pacientes con leishmaniasis y sustentan como control positivo nuestro método de selección de medicamentos con un potencial segundo uso contra la leishmaniasis. Para detalles adicionales, como los parámetros utilizados en la simulación, ver Anexo II.

Los 11 medicamentos para los cuales se realizaron simulaciones, y que provenían de la metodología de homología, se listan en la Tabla 8. Además, se incluyen otros datos como la indicación original de los medicamentos y si han sido probados previamente contra el parásito.

**Tabla 8.** Características de los medicamentos a los cuales se les realizó simulación farmacocinética

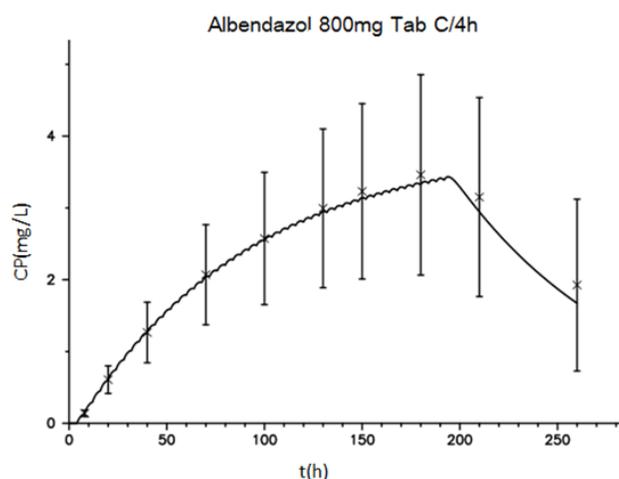
Medicamento	Indicación	Dosis <sup>a</sup>	VA <sup>a</sup>	Modelo farmacocinético	CE <sub>50</sub> <sup>b</sup> (mg/L)
Perfenazina	Antipsicótico	10mg/8h	Oral	1 compartimiento	NR
Lamivudina	Antiretroviral	150mg/24h	Oral	1 compartimiento	NR
Cladribina	Antineoplásico	10mg/2h	Intravenoso	3 compartimientos	NR
Rifabutin	Antimicrobiano	150mg/8h	Oral	2 compartimientos	NR
Metformina	Antidiabético	1000mg/24 h	Oral	2 compartimientos	NR
Tenofovir	Antiretroviral	300mg/24h	Oral	2 compartimientos	NR
Ciclosporina	inmunosupresor	100mg/12h	Oral / Intravenoso	1 compartimiento	10
Albendazol	Antiparasitario	400mg/8h	Oral	1 compartimiento	>100
Colchicina	Antimitótico	10mg/2h	Intravenoso	3 compartimientos	>100
Vinorelbina	Antineoplásico	32mg/0.5h	Intravenoso	3 compartimientos	NR
Cloroquina	Antimalárico	150mg/24h	Oral	2 compartimientos	0.78

<sup>a</sup>La dosis y vía de administración (VA) presentada en esta tabla es la usada en el tratamiento de la patología para la cual fueron diseñados originalmente.

<sup>b</sup>Se indica si se han realizado estudios *in vitro* de estos medicamentos para determinar la CE<sub>50</sub> contra alguna especie del género *Leishmania*. NR: no reportada.

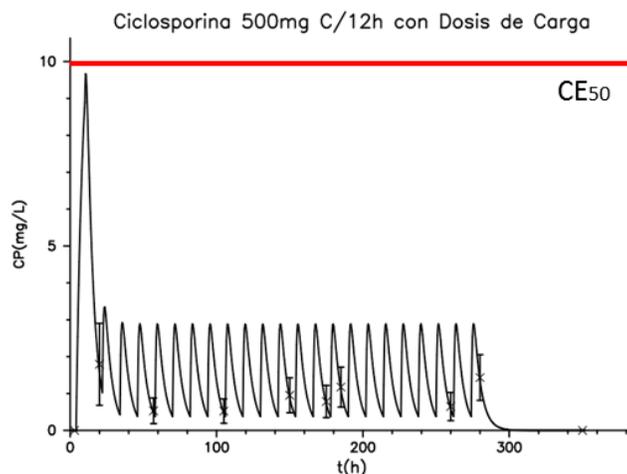
En la tabla 8 se puede observar que algunos de los medicamentos predichos vía homología molecular ya han sido probados *in vitro* previamente. De estos albendazol y colchicina no presentaron una actividad considerable contra el

parásito. Por esta razón no resultan promisorios para evaluación en humanos. El albendazol, por ejemplo, fue probado *in vivo* en hámsteres donde tampoco presentó un efecto contra el parásito (Travi & Osorio, 1998). Si se tienen en cuenta las simulaciones realizadas para estos medicamentos se puede prever la poca utilidad que estos tendrían en el tratamiento de la leishmaniasis en humanos. En el caso del albendazol se observa que se requiere de una concentración mayor a 100 mg/L para matar el parásito mientras que las concentraciones plasmáticas alcanzadas de albendazol (Figura 10) no alcanzan más de 4 mg/L incluso duplicando la dosis habitual y reduciendo los intervalos de dosificación a la mitad.



**Figura 9.** Simulación farmacocinética del albendazol

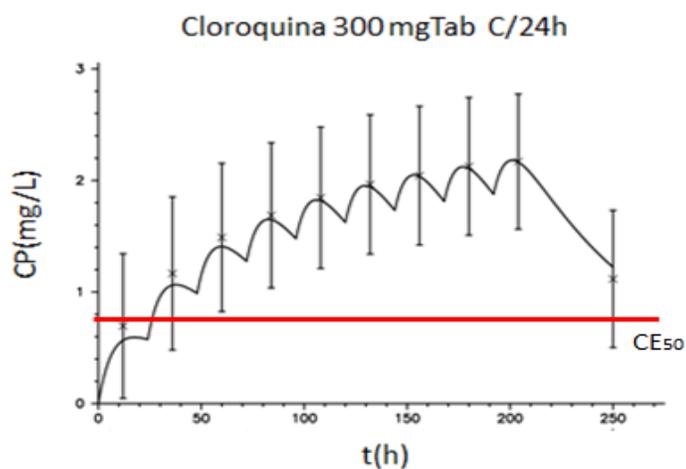
Otro panorama se observa para ciclosporina y cloroquina, que presentan una  $CE_{50}$  de 10 mg/L y 0.78 mg/L respectivamente. En el caso de la ciclosporina, si bien presenta una importante actividad *in vitro*, no resulta promisoriosa su actividad *in vivo* en humanos. Pues, en su simulación farmacocinética (Figura 11) se observa que incluso administrando su máxima dosis recomendada de 500 mg cada 12 horas y utilizando una dosis de carga intravenosa de 350 mg en infusión durante 4 horas, difícilmente se alcanza su  $CE_{50}$ .



**Figura 10.** Simulación farmacocinética de la ciclosporina

Por esta razón ciclosporina no debe ser priorizado para ensayos clínicos contra la leishmaniasis.

En el caso de cloroquina se observa una significativa actividad *in vitro*, además, se aprecia que las concentraciones plasmáticas alcanzadas son mayores a su  $CE_{50}$  contra el parásito luego de 30 horas administrando 300 mg cada 24 horas (Figura 12), por esto es de esperar una actividad anti-*Leishmania* al ser administrada en humanos.



**Figura 11.** Simulación farmacocinética de la cloroquina

Si bien este hallazgo no es completamente novedoso, pues, ya se han reportado pruebas de cloroquina en humanos observando efectividad en el tratamiento, apoya también la utilidad de la metodología de selección utilizada en este trabajo.

Con los resultados obtenidos en estas simulaciones y buscando candidatos para la evaluación *in vivo* fueron seleccionados para pruebas *in vitro* seis de los medicamentos que no han reportado CE<sub>50</sub>: Perfenazina, lamivudina, cladribina, rifabutin, metformina y tenofovir.

Las simulaciones de estos seis medicamentos y los demás listados en la Tabla 8, así como los parámetros farmacocinéticos utilizados para la simulación de todos ellos, se encuentran en el anexo II.

También, es importante mencionar que para cada medicamento se realizó inicialmente una simulación farmacocinética con el esquema de dosificación utilizado para determinar el modelo farmacocinético y posterior a esto se realizaron simulaciones adicionales variando el esquema de dosificación, aumentando la dosis hasta los máximos recomendados. Esto con el fin de hallar las concentraciones plasmáticas más altas posibles del fármaco e inferir si se alcanzan niveles suficientes para afectar el parásito.

#### **5.4 Selección y predicción de variables toxicológicas para la evaluación de compuestos**

Aquí se partió de una lista de compuestos que habían sido obtenidos en un proyecto previo de búsqueda masiva *in silico* de compuestos experimentales con potencial acción anti-*Leishmania* usando el método de docking molecular. De ahí fueron seleccionados mil compuestos con los mejores puntajes. Luego utilizando el software comercial ADMET Predictor fueron predichas diferentes variables entre fisicoquímicas, farmacocinéticas y toxicológicas. En este estudio

no fueron utilizadas las variables fisicoquímicas ni las farmacocinéticas (como volumen de distribución, unión a proteínas plasmáticas, metabolismo por enzimas hepáticas o clearance) debido a que los modelos de predicción disponibles no eran lo suficientemente confiables para la selección. Por esto para la selección se tomaron en cuenta 6 variables toxicológicas: Máxima dosis recomendada, cardiotoxicidad, fosfolipidosis, toxicidad endocrina, irritación de la piel y genotoxicidad.

Estas variables fueron seleccionadas porque en la validación de su capacidad predictiva se observaron los valores de concordancia más altos, lo cual, confiere una mayor confiabilidad en los resultados obtenidos. Además, las primeras 5 variables presentadas en la tabla 3 son importantes en el flujo del descubrimiento de nuevos medicamentos, ya que resultados tóxicos en ellas, llevan al abandono del compuesto en su camino a ser medicamento. Por otro lado, la irritación de piel fue seleccionada pensando en una posible formulación tópica destinada al tratamiento de la leishmaniasis cutánea.

En la Tabla 8 se presentan los compuestos que cumplieron con los criterios definidos en la metodología y que tuvieron un estimado de confianza mayor al 60%. No se presentan los resultados completos de la predicción de las 140 variables para los 1000 compuestos debido a la gran extensión de esta información.

De los 35 compuestos tabulados, que cumplieron con los filtros de selección toxicológica, 10 fueron priorizados para evaluación *in vitro*. Estos se encuentran resaltados en negrilla en la tabla 9. Para esta evaluación *in vitro* se seleccionaron al menos tres compuestos con interacción predicha para cada una de las proteínas blanco presentadas en la tabla 9 y se procuró que esos compuestos no fueran químicamente muy similares entre ellos. Es importante mencionar que los 25 compuestos restantes también resultan interesantes y podrían ser tenidos en cuenta para evaluación experimental en trabajos posteriores.

**Tabla 9.** Compuestos seleccionados con el filtro toxicológico

Compuesto <sup>a</sup>	Proteína <sup>b</sup>	MDR <sup>c</sup>	Tox. Endocrina	Irritación piel	Cardiotoxicidad	Genotoxicidad	Fosfolipidosis	Puntaje docking
<b>ZINC166268**</b>	1XTP	Encima (92%)	No tóxico (96%)	No sensible (88%)	No (71%)	No tóxico (97%)	No tóxico	-13,9
ZINC166491**	1XTP	Encima (92%)	No tóxico (96%)	No sensible (84%)	No (71%)	No tóxico (90%)	No tóxico	-13,8
<b>ZINC329512**</b>	1XTP	Encima (84%)	No tóxico (96%)	No sensible (74%)	No (95%)	No tóxico (97%)	No tóxico	-13,7
<b>ZINC182222**</b>	1XTP	Encima (99%)	No tóxico (61%)	No sensible (92%)	No (95%)	No tóxico (66%)	No tóxico	-13,6
ZINC329512**	1XTP	Encima (84%)	No tóxico (96%)	No sensible (74%)	No (95%)	No tóxico (97%)	No tóxico	-13,6
ZINC329512**	1XTP	Encima (79%)	No tóxico (96%)	No sensible (74%)	No (95%)	No tóxico (97%)	No tóxico	-13,5
<b>ZINC047770**</b>	2WSA	Encima (63%)	No tóxico (96%)	No sensible (97%)	No (82%)	No tóxico (97%)	No tóxico	-13,4
ZINC206002**	1XTP	Encima (81%)	No tóxico (96%)	No sensible (81%)	No (95%)	No tóxico (63%)	No tóxico	-13,4
ZINC330734**	2WSA	Encima (76%)	No tóxico (96%)	No sensible (84%)	No (95%)	No tóxico (81%)	No tóxico	-13,4
ZINC329521**	1XTP	Encima (79%)	No tóxico (96%)	No sensible (74%)	No (95%)	No tóxico (90%)	No tóxico	-13,3
ZINC050600**	1XTP	Encima (70%)	No tóxico (69%)	No sensible (92%)	No (82%)	No tóxico (81%)	No tóxico	-13,2
<b>ZINC085987**</b>	3DWR	Encima (68%)	No tóxico (96%)	No sensible (79%)	No (82%)	No tóxico (78%)	No tóxico	-13,2
ZINC091687**	1XTP	Encima (99%)	No tóxico (61%)	No sensible (76%)	No (95%)	No tóxico (81%)	No tóxico	-13,2
<b>ZINC120055**</b>	2WSA	Encima (70%)	No tóxico (96%)	No sensible (88%)	No (76%)	No tóxico (97%)	No tóxico	-13,2
ZINC156804**	1XTP	Encima (76%)	No tóxico (96%)	No sensible (92%)	No (62%)	No tóxico (81%)	No tóxico	-13,2
ZINC166482**	1XTP	Encima (89%)	No tóxico (96%)	No sensible (81%)	No (76%)	No tóxico (90%)	No tóxico	-13,2
<b>ZINC171355**</b>	3DWR	Encima (66%)	No tóxico (96%)	No sensible (81%)	No (82%)	No tóxico (81%)	No tóxico	-13,2
ZINC216471**	1XTP	Encima (66%)	No tóxico (82%)	No sensible (88%)	No (71%)	No tóxico (69%)	No tóxico	-13,2
<b>ZINC08971**</b>	1XTP	Encima (99%)	No tóxico (69%)	No sensible (92%)	No (95%)	No tóxico (74%)	No tóxico	-13,1
ZINC092654**	2WSA	Encima (68%)	No tóxico (96%)	No sensible (97%)	No (62%)	No tóxico (64%)	No tóxico	-13,1
<b>ZINC329512**</b>	2WSA	Encima (79%)	No tóxico (96%)	No sensible (74%)	No (95%)	No tóxico (97%)	No tóxico	-13,1

ZINC329520**	2WSA	Encima (64%)	No tóxico (96%)	No sensible (79%)	No (95%)	No tóxico (97%)	No tóxico	-13,1
ZINC070043**	1XTP	Encima (60%)	No tóxico (96%)	No sensible (92%)	No (95%)	No tóxico (78%)	No tóxico	-13,0
ZINC086075**	2WSA	Encima (61%)	No tóxico (69%)	No sensible (92%)	No (61%)	No tóxico (97%)	No tóxico	-13,0
ZINC182222**	1XTP	Encima (95%)	No tóxico (64%)	No sensible (97%)	No (95%)	No tóxico (78%)	No tóxico	-13,0
ZINC047770**	2WSA	Encima (63%)	No tóxico (96%)	No sensible (97%)	No (82%)	No tóxico (97%)	No tóxico	-12,9
<b>ZINC085875**</b>	3DWR	Encima (84%)	No tóxico (82%)	No sensible (92%)	No (65%)	No tóxico (97%)	No tóxico	-12,9
ZINC101565**	1XTP	Encima (63%)	No tóxico (82%)	No sensible (97%)	No (62%)	No tóxico (66%)	No tóxico	-12,9
ZINC124315**	2WSA	Encima (87%)	No tóxico (96%)	No sensible (88%)	No (95%)	No tóxico (78%)	No tóxico	-12,9
ZINC150728**	2WSA	Encima (61%)	No tóxico (96%)	No sensible (79%)	No (68%)	No tóxico (78%)	No tóxico	-12,9
ZINC158382**	2WSA	Encima (79%)	No tóxico (82%)	No sensible (97%)	No (68%)	No tóxico (61%)	No tóxico	-12,9
ZINC171360**	3DWR	Encima (68%)	No tóxico (96%)	No sensible (72%)	No (95%)	No tóxico (90%)	No tóxico	-12,9
ZINC218872**	2WSA	Encima (72%)	No tóxico (82%)	No sensible (92%)	No (82%)	No tóxico (97%)	No tóxico	-12,9
ZINC330866**	2WSA	Encima (79%)	No tóxico (82%)	No sensible (81%)	No (71%)	No tóxico (97%)	No tóxico	-12,9
ZINC330866**	2WSA	Encima (61%)	No tóxico (69%)	No sensible (97%)	No (61%)	No tóxico (97%)	No tóxico	-12,9

<sup>a</sup>Los compuestos resaltados en negrita fueron priorizados para evaluación *in vitro*.

<sup>b</sup>En esta columna se indica la proteína con la cual se realizó el docking molecular y sobre la cual interactúa el compuesto. 2WSA: N-Miristoil transferasa. 1XTP: SAM-Metil transferasa. 3DWR coproporfirinogeno oxidasa.

<sup>c</sup>MDR: Máxima dosis recomendada

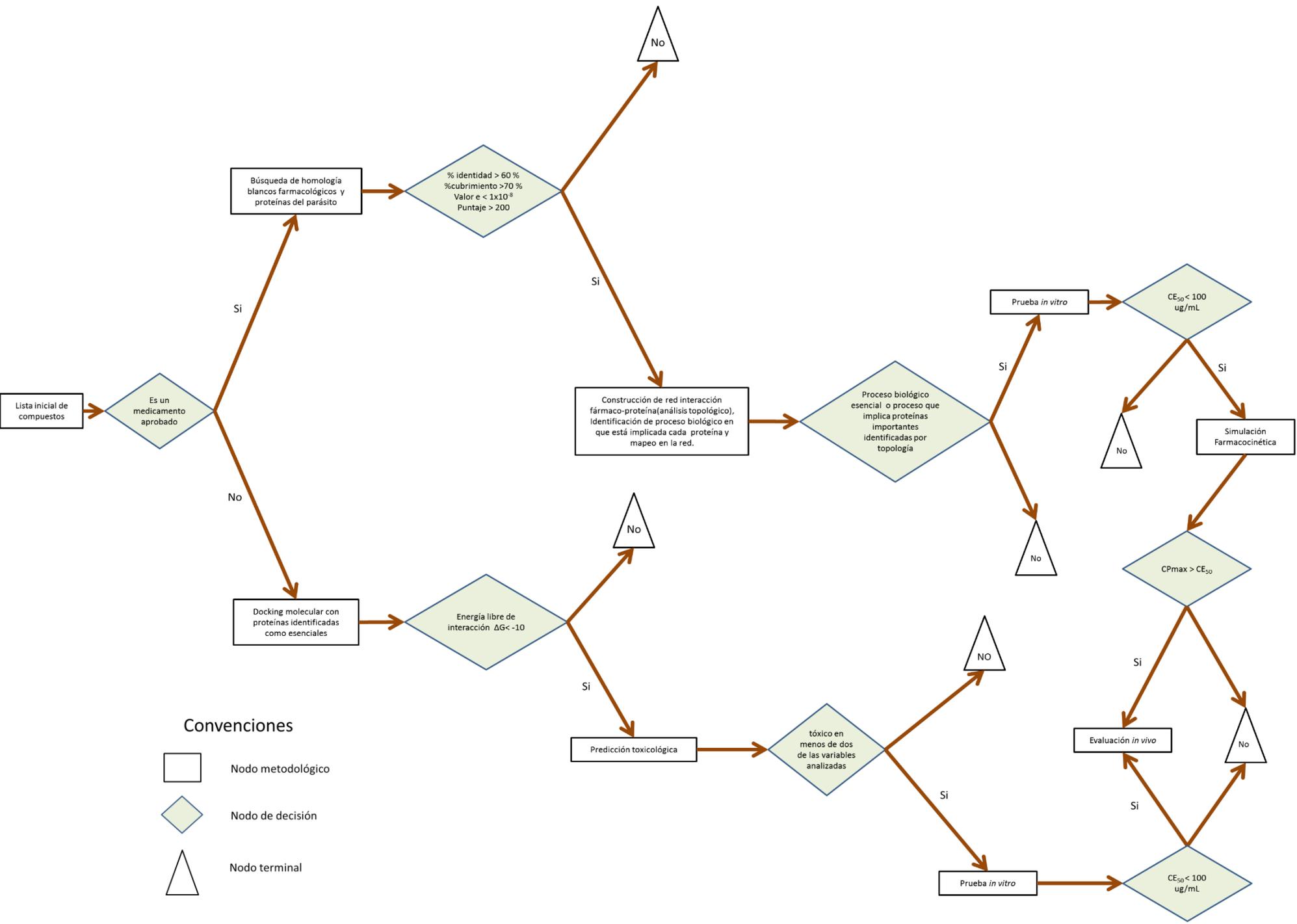
### **5.5 Modelo de selección de compuestos y fármacos para evaluación *in vivo***

La metodología computacional aplicada para la selección de fármacos y compuestos llevó a la selección para evaluación *in vitro* de 16 moléculas (10 compuestos y 6 fármacos, tabla 10). Estas moléculas fueron seleccionadas de manera racional y quizás puedan tener una mayor probabilidad de éxito en su evaluación *in vitro* e *in vivo* que otras moléculas escogidas de forma aleatoria. Basados en los resultados y experiencia obtenida durante el desarrollo de este trabajo se consolidó un modelo de decisión en forma de árbol de decisión para seleccionar moléculas con potencial terapéutico. El modelo de decisión puede ser usado en la búsqueda de tratamientos contra la leishmaniasis si se parte de una librería química diferente a la usada en este trabajo. Además, puede resultar útil en la búsqueda de tratamientos de enfermedades diferentes a la leishmaniasis, si estas son ocasionadas por un patógeno.

En la figura 13 puede encontrarse un esquema general del árbol de decisión propuesto. Además en el link <https://prezi.com/0nr6wnq1riok/arbore-de-decision/> puede encontrarse una presentación secuencial y más detallada de este árbol.

**Tabla 10.** Moléculas seleccionadas para evaluación *in vitro*

Lamivudina	ZINC32951***	ZINC32951***
Tenofovir	ZINC18222***	ZINC08971***
Cladribina	ZINC04777***	ZINC08587***
Metformina	ZINC12005***	ZINC08598**
Perfenazina	ZINC17135***	
Rifabutin	ZINC16626***	



**Convenciones**

- Nodo metodológico
- Nodo de decisión
- Nodo terminal

**Figura 12. Árbol de decisión para la selección de moléculas con potencial terapéutico contra la leishmaniasis.**

## 6. DISCUSIÓN

Como fue señalado previamente en la introducción, la leishmaniasis es una enfermedad tropical olvidada, como tal, no hay una fuerte inversión en investigación y no resulta de interés para las industrias farmacéuticas invertir en desarrollo de medicamentos, pues, no tiene asociado un mercado que resulte lucrativo para estas grandes industrias. Además, los medicamentos de los que se dispone para el tratamiento de esta enfermedad actualmente no son completamente satisfactorios, entre otras cosas, por sus múltiples efectos adversos, los altos costos y la adquisición de resistencia a ellos por parte del parásito. Por tales motivos, se hace necesaria la búsqueda de nuevos tratamientos para esta enfermedad, ya sea de nuevos medicamentos o de segundos usos de medicamentos ya existentes, que sean más seguros para el paciente, eficaces contra el parásito y que tengan un costo razonable para facilitar el acceso de los pacientes de bajos recursos.

Con miras a satisfacer esta necesidad de nuevos tratamientos, las herramientas computacionales resultan bastante útiles en el proceso de descubrimiento de medicamentos, acortando tiempos y reduciendo costos de desarrollo. Por esto, resultan adecuadas en la búsqueda de nuevos tratamientos de patologías como la leishmaniasis. Sin embargo, toda metodología computacional trae asociada una incertidumbre, que puede ser mayor o menor dependiendo de la herramienta y que debe ser considerada por el investigador, valorando su magnitud y decidiendo aceptar o no los resultados obtenidos por una herramienta dada. De cualquier forma, posterior a la obtención de resultados con herramientas computacionales se debe trabajar en una fase experimental, donde se retengan las predicciones computacionales y se determine la validez de las mismas. Dicho esto, se entiende entonces que el rol de los métodos computacionales usados en este trabajo es el de aumentar la probabilidad de tener éxito en el trabajo experimental, mas no el de evitar o suprimir completamente este.

También es claro que en este trabajo fueron utilizados dos enfoques: uno que partió de medicamentos ya disponibles en el mercado. Aquí, las herramientas computacionales se usaron para buscar como un segundo uso la potencial acción contra el parásito. El segundo enfoque partió de compuestos que aún no son medicamentos y la metodología computacional utilizada buscaba aquellos compuestos que tuvieran una potencial acción contra el parásito y menor probabilidad de presentar efectos tóxicos en humanos.

Para el enfoque que buscaba segundos usos de medicamentos se usaron tres metodologías computacionales: homología molecular, redes de interacción y simulaciones farmacocinéticas.

Con el método de homología molecular se obtuvieron 33 medicamentos con una potencial acción contra el parásito (ver tabla 5). Se observa que estos medicamentos son de grupos farmacológicos diversos, entre ellos: Antimicóticos, antimicrobianos, antineoplásicos, antipsicóticos, antiretrovirales, hipoglicemiantes y antiinflamatorios. También se observó que algunos de ellos ya presentaban reportes en la literatura de evaluación *in vitro* contra el parásito, por ejemplo: albendazol, cloroquina, ciclosporina y colchicina. En esta lista también hay incluidos algunos medicamentos que se sabe son altamente tóxicos, como los antineoplásicos, por lo que no resultan muy interesantes para un tratamiento sistémico, pero que no deberían ser descartados si se piensa en un tratamiento local como la vía tópica.

Para estos 33 medicamentos se postula una posible interacción con alguna proteína del parásito que presenta similitud en su secuencia de aminoácidos con la proteína diana original de cada medicamento. Además, se compararon las estructuras tridimensionales de las proteínas del parásito con las del blanco farmacológico observando una similitud adecuada que favorecería la interacción fármaco-proteína del parásito. Esta posible interacción no implica necesariamente la muerte del parásito, sin embargo, es de esperar que los procesos biológicos del parásito que incluyen estas proteínas sean alterados de alguna forma. Habrá entonces una mayor probabilidad de que la viabilidad del

parásito se vea comprometida en la medida que el proceso biológico donde está implicada la proteína sea de mayor importancia.

Para tener luces sobre esa importancia que tienen los diferentes procesos biológicos en el parásito se usó la metodología de las redes de interacción. Con esta herramienta se buscaron e identificaron dos grupos de proteínas que podrían resultar críticas para el parásito y por ello resultan interesantes como potenciales blancos farmacológicos. Estos grupos de proteínas son hubs y bottlenecks. En total fueron identificados 77 hubs y 19 bottlenecks por medio de un análisis topológico realizado a la red de interacción proteína-proteína. Posterior a ello, se revisó si los 33 medicamentos obtenidos por homología presentaban interacción con alguna de estas proteínas.

Se observó que los medicamentos rifabutin y nedocromil podrían interactuar con HSP90 proteína identificada como hub. El ácido acetilsalicílico podría interactuar con HSP70, igualmente categorizada como hub. Loperamida, cincocaína, perfenazina, nicardipino, fenoxibenzamina, felodipino, clorpromazina, flufenazina y trifluoperazina podrían establecer interacción con calmodulina que también se identificó como hub. Por esto, se consideró que los medicamentos mencionados podrían ser más promisorios para una evaluación *in vitro*.

Por otro lado, teniendo en cuenta que los resultados obtenidos por la metodología de redes de interacción llevan asociada la incertidumbre inherente de las herramientas computacionales, se buscaron reportes de evaluación experimental de la importancia de las proteínas sobre las que se predecían interactuaban los medicamentos, ya fueran específicamente las proteínas del parásito o sus homólogos en otras especies. Se encontró que las proteínas mencionadas si desempeñaban funciones relevantes, como regular el movimiento del calcio en el caso de la calmodulina, el plegado de proteínas y respuesta al estrés en HSP70 y HSP90 los cuales podrían ser blancos interesantes para medicamentos (Folgueira et al., 2008; Mazumder, Mukherjee, & Ghosh, 1992). Además, se encontró que la proteína nucleósido difosfato quinasa, con la cual interactúan tenofovir y lamivudina (Mishra et al., 2017) y la

proteína ribonucleósido difosfato reductasa, sobre la cual interactúa cladribina (Chavali et al., 2012) aunque no fueron identificadas como hubs con el análisis topológico, resultan vitales para la supervivencia de múltiples organismos, por lo cual, estos tres medicamentos también fueron considerados para una evaluación *in vitro*.

Con la visualización de la red de interacción fármaco-proteína se pudo observar también que algunos procesos biológicos contaban con más de una proteína que tuviera al menos un fármaco asociado. Este hecho resulta interesante, pues, se podría pensar que, al alterar un proceso biológico en dos puntos diferentes del proceso, podría comprometerse más fácilmente el correcto funcionamiento del mismo. Este fue el caso del ácido acetilsalicílico y rifabutin-nedocromil, que interactúan sobre HSP70 y HSP90, respectivamente. Estas dos proteínas están implicadas en el procesamiento de proteínas en el retículo endoplasmático, sobre todo en lo relacionado con el plegamiento correcto de las mismas (Folgueira et al., 2008; Wiesgigl & Clos, 2001). Sería interesante, entonces, la evaluación *in vitro* de estos medicamentos de forma separada y conjunta con el fin de observar si se presenta una interacción positiva que resulte más efectiva contra el parásito. Con la misma lógica, se postula una combinación de cladribina con lamivudina-tenofovir que interactúan, respectivamente, con las proteínas ribonucleósido difosfato reductasa y nucleósido difosfato quinasa, ambas implicadas en la síntesis de nucleótidos para la replicación genética.

Además, en la búsqueda de segundos usos se aprovechó que algunos de los medicamentos determinados por análisis de homología contaban con información sobre su comportamiento farmacocinético. Se realizó una búsqueda exhaustiva de modelos de farmacocinética poblacional para los medicamentos listados en la tabla 5. Con los datos obtenidos se pudieron realizar simulaciones para 13 medicamentos: los 11 presentados en la tabla 8 y dos utilizados actualmente en tratamiento de la leishmaniasis (Anfotericina B y miltefosina). El objetivo de esta metodología fue evaluar la probabilidad de que los medicamentos simulados resultaran efectivos contra al parásito si fueran

administrados en humanos. Tomando como hipótesis que aquellos fármacos que alcancen una concentración plasmática mayor que su  $CE_{50}$  contra el parásito tendrán una mayor probabilidad de resultar efectivos en el tratamiento de la leishmaniasis. Se debe mencionar que lo realizado en esta metodología no permite establecer un modelo que explique la relación farmacodinámica/farmacocinética, sin embargo, en las simulaciones realizadas para anfotericina B y miltefosina se observa que ambos alcanzan rápidamente concentraciones plasmáticas mayores a su  $CE_{50}$  y se mantiene de esta forma a lo largo del tratamiento. Esto concuerda con la hipótesis planteada y apoya su utilidad como criterio de selección de potenciales fármacos en el camino a un nuevo tratamiento de la enfermedad.

Cuatro de los 11 medicamentos simulados contaban con  $CE_{50}$  reportadas: albendazol, ciclosporina, colchicina y cloroquina. Se observó que los tres primeros no alcanzaban concentraciones plasmáticas suficientes para matar al parásito, razón por la cual no se deberían tener en cuenta para seguir adelante con evaluaciones *in vivo* o clínicas. Diferente a cloroquina, que si alcanza una concentración plasmática mayor a la  $CE_{50}$ , lo que sugiere una posible efectividad en el tratamiento de la enfermedad, en caso de que alcance a llegar al parásito. Esto, aunque es un hallazgo interesante, no es novedoso, pues, se han publicado estudios clínicos en los que se ha evaluado la utilidad de este medicamento en pacientes con leishmaniasis. Por ejemplo en 2006, en Pakistán, Khan y colaboradores reportaron un ensayo clínico con 30 pacientes con leishmaniasis cutánea, en este estudio observaron efectividad y seguridad de la cloroquina para el tratamiento de *Leishmania*, incluso mayores que los antimoniales (Khan et al., 2007).

En cuanto a los 7 medicamentos restantes para los que se realizaron simulaciones, no se encontraron datos disponibles de la  $CE_{50}$  contra el parásito por lo cual se sugirió su evaluación *in vitro* y con ello dar utilidad a la información farmacocinética generada.

Finalmente, en lo que respecta a las simulaciones farmacocinéticas se debe tener presente que los modelos poblacionales utilizados fueron generados a partir de datos provenientes de voluntarios sanos o de pacientes con la enfermedad para la cual fue indicado originalmente el medicamento. Esto es importante debido a que cada patología, en este caso la leishmaniasis, puede implicar alteraciones fisiológicas con lo cual se pueden generar variaciones de los parámetros farmacocinéticos utilizados para las simulaciones.

En lo que respecta al enfoque que buscaba potenciales medicamentos contra el parásito en librerías de compuestos que aún no son medicamentos, se usó como punto de partida una lista de 1000 compuestos que obtuvieron un buen puntaje de docking molecular en un proyecto que se realizó previamente el PECET (Ochoa et al., 2016). La totalidad de estos compuestos tienen una probabilidad considerable de interactuar con proteínas que han sido identificadas como potenciales blancos farmacológicos debido a su importancia para el parásito. Sin embargo, como estos compuestos nunca han sido utilizados en humanos, no se dispone de información sobre los efectos que estos pueden ejercer en el organismo. Por esta razón se decidió realizar una predicción de variables fisicoquímicas, farmacocinéticas y toxicológicas que sirviera como una aproximación inicial del comportamiento de estos compuestos al ser administrados en personas. La cantidad de información generada fue muy extensa, por esto se decidió centrar la atención en las variables toxicológicas, considerando también que la toxicidad es uno de los problemas que más limita que un compuesto llegue a ser aprobado como medicamento. A su vez, dentro de las variables toxicológicas, se usaron para efectos de selección aquellas que presentaban una mayor probabilidad de predicciones acertadas con el programa usado, en este caso ADMET Predictor. Las variables seleccionadas y los criterios de selección asociados a ellas se presentan en la tabla 3. En esta tabla se observa que las seis variables utilizadas para selección tienen una concordancia en sus predicciones mayor al 80%. Además de este porcentaje de concordancia, cada predicción tiene asociado un estimado de confianza en porcentaje que se muestra entre paréntesis en la tabla 9. En este trabajo se

consideró aceptable toda predicción con al menos un 60% en este estimado. Como se puede observar también en la tabla 9, 35 compuestos en total, de los 1000 evaluados, cumplieron con los criterios de selección de las 6 variables utilizadas. Todos ellos resultan de interés para evaluaciones experimentales, sin embargo, debido a limitaciones en la capacidad de evaluación experimental fueron seleccionados 10 para pruebas *in vitro*.

## 7. CONCLUSIONES

- Fue posible postular actividad anti-*Leishmania* como segundo uso de 33 medicamentos aprobados para comercialización.
- Se lograron identificar potenciales blancos terapéuticos en *Leishmania* y la posibilidad de interacción entre fármacos que actúan sobre esos blancos usando la red de interacción de proteínas.
- La predicción de variables toxicológicas permitió tamizar compuestos con una menor probabilidad de resultar tóxicos en su evaluación en humanos.
- Se determinó el comportamiento en el tiempo de la concentración plasmática de 13 fármacos para predecir su potencial actividad anti-*Leishmania* en evaluaciones *in vivo*.
- Se logró consolidar un modelo de decisión para la selección racional de moléculas para evaluación experimental con potencial actividad anti-*Leishmania*.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

- Adams, C. P., & Van Brantner, V. (2006). Market watch : Estimating the cost of new drug development: Is it really \$802 million? *Health Affairs*, *25*(2), 420–428.  
<https://doi.org/10.1377/hlthaff.25.2.420>
- Alvar, J., Vélez, I. D., Bern, C., Herrero, M., Desjeux, P., Cano, J., ... de Boer, M. (2012). Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. *PLoS ONE*, *7*(5).  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035671>
- Ashburn, T. T., & Thor, K. B. (2004). Drug repositioning: identifying and developing new uses for existing drugs. *Nature Reviews Drug Discovery*, *3*(8), 673–683.  
<https://doi.org/10.1038/nrd1468>
- Barabási, A.-L., & Oltvai, Z. N. (2004). Network biology: understanding the cell's functional organization. *Nature Reviews Genetics*, *5*(2), 101–113.  
<https://doi.org/10.1038/nrg1272>
- Bates, P. a, & Rogers, M. E. (2004). New insights into the developmental biology and transmission mechanisms of Leishmania. *Current Molecular Medicine*, *4*(6), 601–609.  
<https://doi.org/10.2174/1566524043360285>
- Beaudry, F., Le Blanc, J. C., Coutu, M., & Brown, N. K. (1998). In vivo pharmacokinetic screening in cassette dosing experiments; the use of on-line Pprospekt liquid chromatography/atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry technology in drug discovery. *Rapid Communications in Mass Spectrometry : RCM*, *12*(17), 1216–1222. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0231\(19980915\)12:17<1216::AID-RCM304>3.0.CO;2-O](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0231(19980915)12:17<1216::AID-RCM304>3.0.CO;2-O)
- Bergström, C. A. S. (2003). Computational and Experimental Models for the Prediction of Intestinal Drug Solubility and Absorption. *University of Uppsala PhD Thesis*, 1927–1937.
- Bois, F. Y. (2013). Computational pharmacokinetics at a crossroads. *In Silico Pharmacology*, *1*(1), 5. <https://doi.org/10.1186/2193-9616-1-5>
- Bustanji, Y., Al-Masri, I. M., Qasem, A., Al-Bakri, A. G., & Taha, M. O. (2009). In silico screening for non-nucleoside HIV-1 reverse transcriptase inhibitors using physicochemical filters and high-throughput docking followed by in vitro evaluation. *Chemical Biology & Drug Design*, *74*(3), 258–65. <https://doi.org/10.1111/j.1747-0285.2009.00852.x>
- Campillos, M., Kuhn, M., Gavin, A.-C., Jensen, L. J., & Bork, P. (2008). Drug target identification using side-effect similarity. *Science (New York, N.Y.)*, *321*(5886), 263–6.  
<https://doi.org/10.1126/science.1158140>
- Chavali, A. K., Blazier, A. S., Tlaxca, J. L., Jensen, P. A., Pearson, R. D., & Papin, J. A. (2012). Metabolic network analysis predicts efficacy of FDA-approved drugs targeting the causative agent of a neglected tropical disease. *BMC Systems Biology*, *6*(1), 27.

<https://doi.org/10.1186/1752-0509-6-27>

- Cheng, F., Liu, C., Jiang, J., Lu, W., Li, W., Liu, G., ... Tang, Y. (2012). Prediction of drug-target interactions and drug repositioning via network-based inference. *PLoS Computational Biology*, *8*(5). <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1002503>
- Comite de expertos de la OMS. (2010). *Control de la leishmaniasis*. Retrieved from [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/82766/1/WHO\\_TRS\\_949\\_spa.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/82766/1/WHO_TRS_949_spa.pdf)
- Cox, K. A., Dunn-Meynell, K., Korfmacher, W. A., Broske, L., Nomeir, A. A., Lin, C. C., ... Barr, W. H. (1999). Novel in vivo procedure for rapid pharmacokinetic screening of discovery compounds in rats. *Drug Discovery Today*, *4*(5), 232–237. [https://doi.org/10.1016/S1359-6446\(98\)01299-9](https://doi.org/10.1016/S1359-6446(98)01299-9)
- Csermely, P., Korcsmáros, T., Kiss, H. J. M., London, G., & Nussinov, R. (2013). Structure and dynamics of molecular networks: A novel paradigm of drug discovery: A comprehensive review. *Pharmacology and Therapeutics*, *138*(3), 333–408. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2013.01.016>
- Curreli, F., Zhang, H., Zhang, X., Pyatkin, I., Victor, Z., Altieri, A., & Debnath, A. K. (2011). Virtual screening based identification of novel small-molecule inhibitors targeted to the HIV-1 capsid. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, *19*(1), 77–90. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2010.11.045>
- Desai, P. V., Patny, A., Sabnis, Y., Tekwani, B., Gut, J., Rosenthal, P., ... Avery, M. (2004). Identification of novel parasitic cysteine protease inhibitors using virtual screening. 1. The ChemBridge database. *Journal of Medicinal Chemistry*, *47*(26), 6609–6615. <https://doi.org/10.1021/jm0493717>
- Desjeux, P. (2004). Leishmaniasis: current situation and new perspectives. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, *27*(5), 305–18. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2004.03.004>
- Distinto, S., Esposito, F., Kirchmair, J., Cardia, M. C., Gaspari, M., MacCioni, E., ... Tramontano, E. (2012). Identification of HIV-1 reverse transcriptase dual inhibitors by a combined shape-, 2D-fingerprint- and pharmacophore-based virtual screening approach. *European Journal of Medicinal Chemistry*, *50*, 216–229. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2012.01.056>
- Filikov, A. V., Mohan, V., Vickers, T. A., Griffey, R. H., Cook, P. D., Abagyan, R. A., & James, T. L. (2000). Identification of ligands for RNA targets via structure-based virtual screening: HIV-1 TAR. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, *14*(6), 593–610. <https://doi.org/10.1023/A:1008121029716>
- Flórez, A. F., Park, D., Bhak, J., Kim, B.-C., Kuchinsky, A., Morris, J. H., ... Muskus, C. (2010). Protein network prediction and topological analysis in *Leishmania major* as a tool for drug target selection. *BMC Bioinformatics*, *11*, 484. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-11-484>
- Folgueira, C., Carrión, J., Moreno, J., Saugar, J. M., Cañavate, C., & Requena, J. M. (2008). Effects of the disruption of the HSP70-II gene on the growth, morphology, and virulence of *Leishmania infantum* promastigotes. *International Microbiology*, *11*(2), 81–89. <https://doi.org/10.2436/20.1501.01.47>

- Hsieh, Y. (2008). HPLC MS/MS in drug metabolism and pharmacokinetic screening. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.*, 4(1), 93–101.
- Instituto Nacional de Salud INS. (2017). SIVIGILA-Vigilancia rutinaria. Retrieved from <http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/Subdireccion-Vigilancia/sivigila/Paginas/vigilancia-rutinaria.aspx>
- Jamei, M., Marciniak, S., Feng, K., Barnett, A., Tucker, G., & Rostami-hodjegan, A. (2009). Technology Evaluation, 211–223.
- Khan, I., Yasmin, R., & Siddiqui, I. (2007). Chloroquine in cutaneous leishmaniasis. *Journal of Pakistan Association of Dermatologists*, 17(2), 95–100.
- Lin, J. H., & Lu, A. Y. H. (1997). Role of Pharmacokinetics and Metabolism in Drug Discovery and Development. *Pharmacol. Rev.*, 49(4), 403–449. Retrieved from <http://pharmrev.aspetjournals.org/content/49/4/403.full#sec-25>
- Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., & Feeney, P. J. (1997). Toward minimalistic modeling of oral drug absorption. *Adv. Drug Deliv.*, 3–25.
- Mazumder, S., Mukherjee, T., & Ghosh, J. (1992). Allosteric modulation of Leishmania donovani plasma membrane Ca (2+)-ATPase by endogenous calmodulin. *Journal of Biological ...*, 267, 18440–18446. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1388152%5Cnhttp://www.jbc.org/content/267/26/18440.short>
- Meibohm, H. D. B. (1999). Modeling of Pharmacokinetic/Pharmacodynamic (PK/PD) Relationships: Concepts and Perspectives. *Pharmaceutical Research*, 16(2).
- Minodier, P., & Parola, P. (2007). Cutaneous leishmaniasis treatment. *Travel Medicine and Infectious Disease*, 5(3), 150–8. <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2006.09.004>
- Mishra, A. K., Singh, N., Agnihotri, P., Mishra, S., Singh, S. P., Kolli, B. K., ... Pratap, J. V. (2017). Discovery of novel inhibitors for Leishmania nucleoside diphosphatase kinase (NDK) based on its structural and functional characterization. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 0(0), 0. <https://doi.org/10.1007/s10822-017-0022-9>
- Moroy, G., Martiny, V. Y., Vayer, P., Villoutreix, B. O., & Miteva, M. a. (2012). Toward in silico structure-based ADMET prediction in drug discovery. *Drug Discovery Today*, 17(1–2), 44–55. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2011.10.023>
- Novac, N. (2013). Challenges and opportunities of drug repositioning. *Trends in Pharmacological Sciences*, 34(5), 267–272. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2013.03.004>
- Ochoa, R., Watowich, S. J., Flórez, A., Mesa, C. V., Robledo, S. M., & Muskus, C. (2016). Drug search for leishmaniasis: a virtual screening approach by grid computing. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 30(7), 541–552. <https://doi.org/10.1007/s10822-016-9921-4>
- Oprea, T. I., & Matter, H. (2004). Integrating virtual screening in lead discovery. *Current Opinion in Chemical Biology*, 8(4), 349–58. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2004.06.008>
- Pérez-Nueno, V. I., Pettersson, S., Ritchie, D. W., Borrell, J. I., & Teixidó, J. (2009).

- Discovery of Novel HIV Entry Inhibitors for the CXCR4 Receptor by Prospective Virtual Screening. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 49(4), 810–823. <https://doi.org/10.1021/ci800468q>
- Perez-Pineiro, R., Burgos, A., Jones, D. C., Andrew, L. C., Rodriguez, H., Suarez, M., ... Wishart, D. S. (2009). Development of a novel virtual screening cascade protocol to identify potential trypanothione reductase inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*, 52(6), 1670–1680. <https://doi.org/10.1021/jm801306g>
- Rajasekaran, R., & Chen, Y. P. P. (2012). Probing the structure of leishmania major DHFR TS and structure based virtual screening of peptide library for the identification of anti-Leishmanial leads. *Journal of Molecular Modeling*, 18(9), 4089–4100. <https://doi.org/10.1007/s00894-012-1411-6>
- Seifert, M. H. J., Wolf, K., & Vitt, D. (2003). Virtual high-throughput in silico screening. *Biosilico*, 1(4), 143–149. [https://doi.org/10.1016/S1478-5382\(03\)02359-X](https://doi.org/10.1016/S1478-5382(03)02359-X)
- Singh, N., Kumar, M., & Singh, R. K. (2012). Leishmaniasis: current status of available drugs and new potential drug targets. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 5(6), 485–97. [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(12\)60084-4](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(12)60084-4)
- Swinney, D. C. (2013). Phenotypic vs. Target-Based Drug Discovery for First-in-Class Medicines. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 93(4), 299–301. <https://doi.org/10.1038/clpt.2012.236>
- Travi, B., & Osorio, Y. (1998). Failure of Albendazole as an Alternative Treatment of Cutaneous Leishmaniasis in the Hamster Model, 93(4), 515–516.
- Trouiller, P., Olliaro, P., Torreele, E., Orbinski, J., Laing, R., & Ford, N. (2002). Drug development for neglected diseases: A deficient market and a public-health policy failure. *Lancet*, 359(9324), 2188–2194. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(02\)09096-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(02)09096-7)
- van de Waterbeemd, H., & Gifford, E. (2003). ADMET in silico modelling: towards prediction paradise? *Nature Reviews Drug Discovery*, 2(3), 192–204. <https://doi.org/10.1038/nrd1032>
- Waring, M. J., Arrowsmith, J., Leach, A. R., Leeson, P. D., Mandrell, S., Owen, R. M., ... Weir, A. (2015). An analysis of the attrition of drug candidates from four major pharmaceutical companies. *Nature Reviews Drug Discovery*, 14(7), 475–486. <https://doi.org/10.1038/nrd4609>
- WHO | Leishmaniasis. (n.d.). Retrieved from <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs375/en/>
- Wiederstein, M., & Sippl, M. J. (2007). ProSA-web: Interactive web service for the recognition of errors in three-dimensional structures of proteins. *Nucleic Acids Research*, 35(SUPPL.2), 407–410. <https://doi.org/10.1093/nar/gkm290>
- Wiesgigl, M., & Clos, J. (2001). The heat shock protein 90 of Leishmania donovani. *Medical Microbiology and Immunology*, 190(1–2), 27–31. <https://doi.org/10.1007/s004300100074>

## 9. LISTA DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Tratamiento farmacológico de la leishmaniasis y Reacciones Adversas al medicamento (RAM) asociadas.....	10
<b>Tabla 2.</b> Ejemplos de fármacos con segundos usos aprobados.....	14
<b>Tabla 3.</b> Variables toxicológicas seleccionadas con su validación y criterios de selección de compuestos.....	32
<b>Tabla 4.</b> Numero de hits encontrados por especie de Leishmania.....	36
<b>Tabla 5.</b> Medicamentos con potencial actividad anti-Leishmania determinados por análisis de homología.....	37
<b>Tabla 6.</b> Proteínas sobre las que actúan los medicamentos identificados y rutas implicadas.....	38
<b>Tabla 7.</b> Dianas farmacológicas incluidas en la red y sus fármacos asociados.....	45
<b>Tabla 8.</b> Características de los medicamentos a los cuales se les realizó simulación farmacocinética.....	52
<b>Tabla 9.</b> Compuestos seleccionados con el filtro toxicológico.....	57
<b>Tabla 10.</b> Moléculas seleccionadas para evaluación in vitro.....	59

## 10. LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Casos de Leishmaniasis en Colombia (2012-2016).....	9
<b>Figura 2.</b> Representación general de una red de interacción de proteínas.....	18
<b>Figura 3.</b> Comparación estructura 3D entre proteínas blanco de medicamento con la respectiva proteína homóloga del parásito.....	40
<b>Figura 4.</b> Red de interacción fármaco-proteína.....	42
<b>Figura 6.</b> Ruta del procesamiento de proteínas en el retículo endoplasmático.....	47
<b>Figura 7.</b> Vía de señalización del fosfatidil inositol.....	49
<b>Figura 8.</b> Vía de síntesis de las purinas.....	50
<b>Figura 9.</b> Simulaciones control.....	51
<b>Figura 10.</b> Simulación farmacocinética del albendazol.....	53
<b>Figura 11.</b> Simulación farmacocinética de la ciclosporina.....	54
<b>Figura 12.</b> Simulación farmacocinética de la cloroquina.....	54
<b>Figura 13.</b> Árbol de decisión para la selección de moléculas con potencial terapéutico contra la leishmaniasis.....	60

## 11. ANEXOS

### **Anexo I. Hits obtenidos en la búsqueda de medicamentos con potencial actividad anti-Leishmania por homología molecular para cada especie evaluada.**

#### **Anexo I-a. Leishmania mexicana**

Proteína del Parásito	Blanco	% Identidad	Valor e	Puntaje	% Cubrimiento	Medicamentos
LmxM.08.1230	F1L7U3	80.6	0	692	97	Albendazole
LmxM.21.1860	F1L7U3	81.05	0	760	99	Albendazole
LmxM.08.1171	F1L7U3	81.05	0	760	99	Albendazole
LmxM.32.0794	F1L7U3	81.05	0	760	89	Albendazole
LmxM.32.0792	F1L7U3	81.05	0	760	99	Albendazole
LmxM.36.2350	O14556	61.93	4.00E-144	415	100	NO aprobados
LmxM.27.0740	O75251	60.14	1.00E-067	207	74	Doxorubicin
LmxM.10.0290	O75874	64.99	0	549	91	NO aprobados
LmxM.08.1230	P04350	84.58	0	722	97	NO aprobados
LmxM.21.1860	P04350	85.95	0	779	96	NO aprobados
LmxM.08.1171	P04350	85.25	0	775	96	NO aprobados
LmxM.32.0794	P04350	85.25	0	773	87	NO aprobados
LmxM.32.0792	P04350	85.25	0	775	96	NO aprobados
LmxM.36.2350	P04406	64.76	1.00E-155	441	100	NO aprobados
LmxM.28.0490	P05166	61.93	0	628	93	biotin
LmxM.25.1170	P06576	63.94	0	642	96	NO aprobados
LmxM.08.1230	P07437	84.83	0	726	97	Vinorelbine-vinblastine-colchicine-podofilox-vincristine
LmxM.21.1860	P07437	86.25	0	786	97	Vinorelbine-vinblastine-colchicine-podofilox-vincristine
LmxM.08.1171	P07437	85.55	0	782	97	Vinorelbine-vinblastine-colchicine-podofilox-vincristine
LmxM.32.0794	P07437	85.55	0	781	87	Vinorelbine-vinblastine-colchicine-podofilox-vincristine
LmxM.32.0792	P07437	85.55	0	782	97	Vinorelbine-vinblastine-colchicine-podofilox-vincristine
LmxM.32.0316	P07900	62.29	0	868	100	Rifabutim-nedocromil
LmxM.32.0312	P07900	62.29	0	868	100	Rifabutim-nedocromil
LmxM.32.0314	P07900	62.29	0	868	100	Rifabutim-nedocromil
LmxM.32.0316	P08238	62.17	0	856	100	NO aprobados
LmxM.32.0312	P08238	62.17	0	856	100	NO aprobados
LmxM.32.0314	P08238	62.17	0	856	100	NO aprobados
LmxM.14.1160	P09104	60.66	0	518	100	NO aprobados
LmxM.36.2350	P0A9B2	79.88	0	548	99	NO aprobados
LmxM.08.1230	P10875	71.14	0	615	97	Griseofulvin
LmxM.21.1860	P10875	72.05	0	675	99	Griseofulvin
LmxM.08.1171	P10875	71.82	0	670	98	Griseofulvin
LmxM.32.0794	P10875	71.36	0	670	89	Griseofulvin
LmxM.32.0792	P10875	71.82	0	670	98	Griseofulvin
LmxM.28.2770	P11021	63.81	0	806	96	acetylsalicylic acid

LmxM.28.1200	P11021	64.57	0	816	94	acetylsalicylic acid
LmxM.28.2770	P11142	73.49	0	939	93	NO aprobados
LmxM.28.2780	P11142	70.14	2.00E-147	432	88	NO aprobados
LmxM.26.1240	P11142	65.09	0	832	96	NO aprobados
LmxM.28.1200	P11142	63.18	0	792	93	NO aprobados
LmxM.06.0880	P11310	61.38	1.00E-170	487	91	FAD
LmxM.36.0180	P13639	61.53	0	1062	100	NO aprobados
LmxM.14.1160	P13929	60.19	1.00E-180	513	100	NO aprobados
LmxM.31.2951	P15531	64	2.00E-068	205	99	Tenofovir- Lamivudina- adefovir
LmxM.31.2950	P15531	64	2.00E-068	205	99	Tenofovir- Lamivudina- adefovir
LmxM.30.2280	P18085	66.29	2.00E-087	256	98	NO aprobados
LmxM.30.2790	P18085	70.76	4.00E-092	268	96	NO aprobados
LmxM.28.2430	P21281	72.75	0	723	96	gallium nitrate
LmxM.27.0300	P22033	62.15	0	906	98	Hydroxocobalamin- cyanocobalamin
LmxM.31.2951	P22392	64.86	9.00E-070	209	98	Tenofovir- Lamivudina- adefovir
LmxM.31.2950	P22392	64.86	9.00E-070	209	98	Tenofovir- Lamivudina- adefovir
LmxM.29.2980	P22513	82.15	0	623	98	NO aprobados
LmxM.25.0960	P23258	65.18	0	616	100	Vinblastine
LmxM.36.3910	P23526	71.66	0	622	99	Proline
LmxM.34.0370	P26196	66.08	0	590	99	NO aprobados
LmxM.05.0350	P28593	67.62	0	686	99	FAD
LmxM.25.0910	P30405	69.09	2.00E-079	236	93	cyclosporine
LmxM.29.3500	P31153	62.02	2.00E-161	461	99	SAM
LmxM.27.2050	P31350	62.73	1.00E-153	441	85	Cladribine
LmxM.30.2630	P36873	67.16	9.00E-144	412	74	NO aprobados
LmxM.33.0810	P36873	61.43	1.00E-137	394	97	NO aprobados
LmxM.33.0800	P36873	61.09	5.00E-136	390	98	NO aprobados
LmxM.33.0790	P36873	62.89	4.00E-140	401	94	NO aprobados
LmxM.28.0690	P36873	75.34	6.00E-179	499	98	NO aprobados
LmxM.33.0780	P36873	62.46	1.00E-135	389	96	NO aprobados
LmxM.33.3670	P38606	65.4	0	814	99	Alendronate- tiludronate- etidronic acid
LmxM.17.0070	P40616	60.61	5.00E-077	230	88	NO aprobados
LmxM.10.0290	P48735	67.07	0	590	94	NO aprobados
LmxM.05.0980	P49821	70.38	0	633	88	NO aprobados
LmxM.24.0850	P52270	68.13	1.00E-131	374	100	NO aprobados
LmxM.25.2130	P53597	68.26	1.00E-118	346	98	Succinic acid
LmxM.25.2140	P53597	66.78	2.00E-118	346	100	Succinic acid
LmxM.36.1370	P55072	74.3	0	1139	96	NO aprobados
LmxM.30.2630	P62136	67.53	2.00E-144	414	74	NO aprobados
LmxM.33.0810	P62136	62.12	5.00E-138	395	97	NO aprobados
LmxM.33.0800	P62136	61.13	4.00E-137	393	100	NO aprobados
LmxM.33.0790	P62136	62.28	9.00E-139	397	94	NO aprobados
LmxM.28.0690	P62136	73.42	2.00E-176	493	100	NO aprobados
LmxM.33.0780	P62136	62.12	3.00E-137	393	98	NO aprobados
LmxM.09.0920	P62158	89.93	3.00E-097	278	100	Chlorpromazine-cinchocaine- nicardipine-Fluphenazine- trifluoperazine-loperamide- perphenazine- phenoxybenzamine-felodipine
LmxM.09.0910	P62158	89.93	3.00E-097	278	100	Chlorpromazine-cinchocaine- nicardipine-Fluphenazine- trifluoperazine-loperamide-

						perphenazine- phenoxybenzamine-felodipine
LmxM.09.0930	P62158	89.93	3.00E-097	278	100	Chlorpromazine-cinchocaine- nicardipine-Fluphenazine- trifluoperazine-loperamide- perphenazine- phenoxybenzamine-felodipine
LmxM.30.2790	P62330	64.37	5.00E-084	247	98	NO aprobados
LmxM.25.1320	P62714	72.43	6.00E-172	481	95	Vitamine E
LmxM.25.1420	P62826	70.87	1.00E-107	310	95	NO aprobados
LmxM.34.3790	P62829	75.97	5.00E-069	206	93	NO aprobados
LmxM.34.3800	P62829	75.97	5.00E-069	206	93	NO aprobados
LmxM.34.1300	P62837	73.65	1.00E-081	239	100	NO aprobados
LmxM.04.0470	P62913	72.78	4.00E-091	265	90	NO aprobados
LmxM.22.0030	P62913	72.78	4.00E-091	265	90	NO aprobados
LmxM.31.3900	P62917	61.66	1.00E-107	313	97	NO aprobados
LmxM.34.1440	P62917	61.66	1.00E-107	313	97	NO aprobados
LmxM.34.1430	P62917	61.66	1.00E-107	313	97	NO aprobados
LmxM.25.0910	P62937	69.09	4.00E-080	236	93	cyclosporine
LmxM.25.1320	P67775	72.76	9.00E-172	481	95	Vitamin E
LmxM.17.0080	P68104	75.65	0	730	100	NO aprobados
LmxM.17.0085	P68104	75.89	0	679	100	NO aprobados
LmxM.17.0084	P68104	81.4	7.00E-127	368	100	NO aprobados
LmxM.17.0082	P68104	75.65	0	730	100	NO aprobados
LmxM.17.0083	P68104	75	4.00E-115	337	100	NO aprobados
LmxM.17.0086	P68104	81.34	6.00E-075	231	100	NO aprobados
LmxM.17.0081	P68104	75.65	0	730	100	NO aprobados
LmxM.04.1230	P68133	70.4	0	590	100	NO aprobados
LmxM.13.0390	P68363	82.92	0	781	80	NO aprobados
LmxM.13.0280	P68363	82.92	0	781	80	NO aprobados
LmxM.13.0300	P68363	80.95	3.00E-178	502	100	NO aprobados
LmxM.13.0290partial	P68363	88.41	2.00E-090	271	91	NO aprobados
LmxM.13.0390	P68366	80.22	0	765	81	Vincristine- podofilox-cabazitaxel
LmxM.13.0280	P68366	80.22	0	765	81	Vincristine- podofilox-cabazitaxel
LmxM.13.0300	P68366	78.23	2.00E-172	487	100	Vincristine- podofilox-cabazitaxel
LmxM.13.0290partial	P68366	85.42	3.00E-090	271	95	Vincristine- podofilox-cabazitaxel
LmxM.08.1230	P68371	85.82	0	731	97	Albendazole-mebendazole
LmxM.21.1860	P68371	87.12	0	787	96	Albendazole-mebendazole
LmxM.08.1171	P68371	86.42	0	783	96	Albendazole-mebendazole
LmxM.32.0794	P68371	86.42	0	782	87	Albendazole-mebendazole
LmxM.32.0792	P68371	86.42	0	783	96	Albendazole-mebendazole
LmxM.30.2280	P84077	69.49	1.00E-091	266	97	NO aprobados
LmxM.30.2790	P84077	75.29	2.00E-097	281	96	NO aprobados
LmxM.13.0390	P87066	67.86	0	631	82	Griseofulvin
LmxM.13.0280	P87066	67.86	0	631	82	Griseofulvin
LmxM.13.0300	P87066	67.57	4.00E-139	402	100	Griseofulvin
LmxM.13.0290partial	P87066	69.66	7.00E-072	223	96	Griseofulvin
LmxM.23.0270	Q01782	87.15	0	514	100	NO aprobados
LmxM.28.0550	Q06609	72.31	6.00E-172	485	87	NO aprobados
LmxM.08.1230	Q13509	81.84	0	699	97	Ixabepilone
LmxM.21.1860	Q13509	82.54	0	768	100	Ixabepilone
LmxM.08.1171	Q13509	82.21	0	769	100	Ixabepilone
LmxM.32.0794	Q13509	82.21	0	767	90	Ixabepilone
LmxM.32.0792	Q13509	82.21	0	769	100	Ixabepilone

LmxM.13.0390	Q13748	83.6	0	784	80	NO aprobados
LmxM.13.0280	Q13748	83.6	0	784	80	NO aprobados
LmxM.13.0300	Q13748	81.63	5.00E-179	504	100	NO aprobados
LmxM.13.0290partial	Q13748	89.13	7.00E-091	273	91	NO aprobados
LmxM.08.1230	Q13885	84.58	0	723	97	NO aprobados
LmxM.21.1860	Q13885	85.35	0	780	97	NO aprobados
LmxM.08.1171	Q13885	85.58	0	782	97	NO aprobados
LmxM.32.0794	Q13885	85.78	0	780	87	NO aprobados
LmxM.32.0792	Q13885	85.58	0	782	97	NO aprobados
LmxM.23.1580	Q57VC7	69.86	5.00E-072	214	94	NO aprobados
LmxM.13.0390	Q6PEY2	82.46	0	769	80	NO aprobados
LmxM.13.0280	Q6PEY2	82.46	0	769	80	NO aprobados
LmxM.13.0300	Q6PEY2	80.95	2.00E-177	500	100	NO aprobados
LmxM.13.0290partial	Q6PEY2	86.96	7.00E-087	262	91	NO aprobados
LmxM.13.0390	Q71U36	83.37	0	783	80	Albendazole-mebendazole- vinblastine
LmxM.13.0280	Q71U36	83.37	0	783	80	Albendazole-mebendazole- vinblastine
LmxM.13.0300	Q71U36	81.29	3.00E-179	504	100	Albendazole-mebendazole- vinblastine
LmxM.13.0290partial	Q71U36	89.13	6.00E-091	273	91	Albendazole-mebendazole- vinblastine
LmxM.05.0970	Q7K9G0	95.95	0	741	100	NO aprobados
LmxM.22.1290	Q7LG56	60.62	1.00E-143	414	83	Cladribine
LmxM.04.0950	Q96L21	63.21	5.00E-092	270	100	NO aprobados
LmxM.04.0750	Q96L21	63.21	5.00E-092	270	100	NO aprobados
LmxM.13.0390	Q9BQE3	82.26	0	790	82	NO aprobados
LmxM.13.0280	Q9BQE3	82.26	0	790	82	NO aprobados
LmxM.13.0300	Q9BQE3	80.61	8.00E-178	501	100	NO aprobados
LmxM.13.0290partial	Q9BQE3	86.67	1.00E-094	282	99	NO aprobados
LmxM.08.1230	Q9BUF5	81.34	0	690	97	NO aprobados
LmxM.21.1860	Q9BUF5	82.18	0	749	98	NO aprobados
LmxM.08.1171	Q9BUF5	81.94	0	748	98	NO aprobados
LmxM.32.0794	Q9BUF5	81.94	0	746	88	NO aprobados
LmxM.32.0792	Q9BUF5	81.94	0	748	98	NO aprobados
LmxM.08.1230	Q9BVA1	84.58	0	725	97	NO aprobados
LmxM.21.1860	Q9BVA1	85.81	0	784	97	NO aprobados
LmxM.08.1171	Q9BVA1	85.78	0	783	97	NO aprobados
LmxM.32.0794	Q9BVA1	85.78	0	781	87	NO aprobados
LmxM.32.0792	Q9BVA1	85.78	0	783	97	NO aprobados
LmxM.30.2150	Q9GV41	60.81	1.00E-122	353	96	NO aprobados
LmxM.08.1230	Q9H4B7	73.38	0	625	97	Vindesine- paclitaxel-docetaxel- cabazitaxel-colchine
LmxM.21.1860	Q9H4B7	73.6	0	667	97	Vindesine- paclitaxel-docetaxel- cabazitaxel-colchine
LmxM.08.1171	Q9H4B7	73.83	0	668	97	Vindesine- paclitaxel-docetaxel- cabazitaxel-colchine
LmxM.32.0794	Q9H4B7	73.83	0	667	87	Vindesine- paclitaxel-docetaxel- cabazitaxel-colchine
LmxM.32.0792	Q9H4B7	73.83	0	668	97	Vindesine- paclitaxel-docetaxel- cabazitaxel-colchine
LmxM.13.0390	Q9NY65	78.36	0	742	80	NO aprobados
LmxM.13.0280	Q9NY65	78.36	0	742	80	NO aprobados
LmxM.13.0300	Q9NY65	74.83	3.00E-164	466	100	NO aprobados

LmxM.13.0290partial	Q9NY65	87.68	6.00E-090	270	91	NO aprobados
LmxM.27.1060	Q9Y697	65.47	0	577	95	NO aprobados
LmxM.23.0490	Q9Y478	61.24	5.00E-022	259	95	Metformin

### **Anexo I-b. Leishmania panamensis**

<b>Proteína del Parásito</b>	<b>Blanco</b>	<b>% Identidad</b>	<b>Valor e</b>	<b>Puntaje</b>	<b>% Cubrimiento</b>	<b>Medicamentos</b>
LPAL13_210025500	F1L7U3	77.01	8.00E-103	305	98	Albendazole
LPAL13_340005200	F1L7U3	78.99	4.00E-149	426	98	Albendazole
LPAL13_330013200	F1L7U3	78.77	1.00E-087	264	97	Albendazole
LPAL13_000036800	F1L7U3	78.08	4.00E-087	263	97	Albendazole
LPAL13_000042100	F1L7U3	79.68	0	749	99	Albendazole
LPAL13_270014200	O75251	60.14	1.00E-067	207	74	Doxorubicin
LPAL13_100008100	O75874	65.49	0	548	91	No aprobados
LPAL13_210025500	P04350	83.23	4.00E-101	300	91	No aprobados
LPAL13_340005200	P04350	84.58	7.00E-150	427	93	No aprobados
LPAL13_330013200	P04350	82.96	4.00E-084	255	89	No aprobados
LPAL13_000036800	P04350	81.48	4.00E-083	253	89	No aprobados
LPAL13_000042100	P04350	84.31	0	765	96	No aprobados
LPAL13_280010400	P05166	61.65	0	624	93	biotin
LPAL13_250017700	P06576	64.84	0	642	94	No aprobados
LPAL13_210025500	P07437	84.66	3.00E-104	308	92	Vinorelbine-vinblastine-colchicine-podofilox-vincristine
LPAL13_340005200	P07437	85.59	8.00E-153	435	94	Vinorelbine-vinblastine-colchicine-podofilox-vincristine
LPAL13_330013200	P07437	84.67	3.00E-087	263	91	Vinorelbine-vinblastine-colchicine-podofilox-vincristine
LPAL13_000036800	P07437	83.21	4.00E-086	260	91	Vinorelbine-vinblastine-colchicine-podofilox-vincristine
LPAL13_000042100	P07437	84.62	0	772	97	Vinorelbine-vinblastine-colchicine-podofilox-vincristine
LPAL13_330008200	P07900	62.99	0	875	100	Rifabutim-nedocromil
LPAL13_330008200	P08238	62.87	0	866	100	No aprobados
LPAL13_140017000	P09104	60.42	5.00E-180	511	100	No aprobados
LPAL13_350044100	P0CG47	96.45	6.00E-114	325	100	No aprobados
LPAL13_350044100	P0CG47	96.08	2.00E-102	295	91	No aprobados
LPAL13_350044000	P0CG47	96.73	2.00E-103	297	98	No aprobados
LPAL13_350044000	P0CG47	97.37	2.00E-103	297	97	No aprobados
LPAL13_350044100	P0CG48	96.45	3.00E-108	325	100	No aprobados
LPAL13_350044100	P0CG48	96.45	3.00E-108	325	100	No aprobados
LPAL13_350044100	P0CG48	96.45	3.00E-108	325	100	No aprobados

LPAL13_350044100	P0CG48	96.45	3.00E-108	325	100	No aprobados
LPAL13_350044100	P0CG48	96.45	3.00E-108	325	100	No aprobados
LPAL13_350044100	P0CG48	96.45	3.00E-108	325	100	No aprobados
LPAL13_350044100	P0CG48	96.45	3.00E-108	325	100	No aprobados
LPAL13_350044100	P0CG48	96.08	5.00E-097	296	91	No aprobados
LPAL13_350044000	P0CG48	96.73	4.00E-098	298	98	No aprobados
LPAL13_350044000	P0CG48	96.73	4.00E-098	298	98	No aprobados
LPAL13_350044000	P0CG48	96.73	4.00E-098	298	98	No aprobados
LPAL13_350044000	P0CG48	96.73	4.00E-098	298	98	No aprobados
LPAL13_350044000	P0CG48	96.73	4.00E-098	298	98	No aprobados
LPAL13_350044000	P0CG48	96.73	4.00E-098	298	98	No aprobados
LPAL13_350044000	P0CG48	96.73	4.00E-098	298	98	No aprobados
LPAL13_350044000	P0CG48	96.73	4.00E-098	298	98	No aprobados
LPAL13_350044000	P0CG48	97.37	6.00E-098	298	97	No aprobados
LPAL13_210025500	P10875	69.54	1.00E-091	275	98	Griseofulvin
LPAL13_340005200	P10875	70.83	6.00E-132	382	98	Griseofulvin
LPAL13_330013200	P10875	70.95	8.00E-078	239	98	Griseofulvin
LPAL13_000036800	P10875	70.95	5.00E-077	237	98	Griseofulvin
LPAL13_000042100	P10875	70.91	0	667	99	Griseofulvin
LPAL13_280018900	P11021	63.96	0	814	95	acetylsalicylic acid
LPAL13_280035900	P11021	63.81	0	805	96	acetylsalicylic acid
LPAL13_280018900	P11142	63.18	0	790	93	No aprobados
LPAL13_280036000	P11142	68.3	5.00E-129	387	66	No aprobados
LPAL13_280035900	P11142	72.83	0	924	93	No aprobados
LPAL13_260017100	P11142	64.93	0	835	95	No aprobados
LPAL13_060014700	P11310	60.32	4.00E-167	478	91	FAD
LPAL13_060014500	P11310	60.32	4.00E-167	478	91	FAD
LPAL13_350006800	P13639	61.41	0	1061	100	No aprobados
LPAL13_140017000	P13929	60.98	1.00E-179	510	100	No aprobados
LPAL13_320037400	P15531	65.33	1.00E-071	213	99	Tenofovir-Lamivudina-adefovir
LPAL13_310028000	P18085	67.42	3.00E-089	261	98	No aprobados
LPAL13_310034500	P18085	70.76	7.00E-092	267	96	No aprobados
LPAL13_280032200	P21281	72.48	0	718	96	Gallium nitrato
LPAL13_270008400	P22033	62.18	0	901	98	Hydroxocobalamin-cyanocobalamin
LPAL13_320037400	P22392	65.54	1.00E-071	214	98	Tenofovir-Lamivudina-adefovir
LPAL13_300033900	P22513	83	0	625	98	No aprobados
LPAL13_250015800	P23258	65.18	0	615	100	Vinblastine
LPAL13_060006300	P23284	65.06	8.00E-076	228	89	Proline
LPAL13_350048100	P23526	71.66	0	627	99	Isopropyl Alcohol
LPAL13_340008600	P26196	66.08	0	589	99	No aprobados
LPAL13_050008100	P28593	67.83	0	703	99	FAD
LPAL13_250015300	P30405	67.88	4.00E-078	233	93	cyclosporine

LPAL13_330024100	P30405	65.7	1.00E-078	236	76	cyclosporine
LPAL13_300039700	P31153	61.5	2.00E-159	456	99	SAM-metionina
LPAL13_270028800	P31350	63.03	2.00E-154	443	85	Cladribine
LPAL13_310032100	P36873	64.95	1.00E-146	420	80	No aprobados
LPAL13_200012300	P36873	60.89	1.00E-101	300	93	No aprobados
LPAL13_200012400	P36873	60.84	2.00E-075	230	95	No aprobados
LPAL13_200012200	P36873	61.59	7.00E-134	384	97	No aprobados
LPAL13_280012500	P36873	75.68	4.00E-179	499	98	No aprobados
LPAL13_200040300	P38606	65.4	0	810	99	Alendronate-tiludronate-etidronic acid
LPAL13_100008100	P48735	66.67	0	581	94	No aprobados
LPAL13_000032600	P49821	71.56	0	638	88	No aprobados
LPAL13_240014300	P52270	67.33	1.00E-129	369	100	No aprobados
LPAL13_250024400	P53597	67.11	8.00E-119	347	100	Succinic acid
LPAL13_350019600	P55072	72.78	0	1117	96	No aprobados
LPAL13_310032100	P62136	64.95	2.00E-146	419	80	No aprobados
LPAL13_200012300	P62136	60.44	2.00E-100	297	93	No aprobados
LPAL13_200012400	P62136	61.45	1.00E-074	228	95	No aprobados
LPAL13_200012200	P62136	62.63	6.00E-135	387	97	No aprobados
LPAL13_200012500	P62136	61.07	1.00E-062	196	100	No aprobados
LPAL13_280012500	P62136	73.75	8.00E-177	494	100	No aprobados
LPAL13_000026000	P62158	89.93	3.00E-097	278	100	Chlorpromazine-cinchocaine-nicardipine-Fluphenazine-trifluoperazine-loperamide-perphenazine-phenoxybenzamine-felodipine
LPAL13_310034500	P62330	65.52	5.00E-085	249	98	No aprobados
LPAL13_250019100	P62714	72.28	7.00E-172	481	96	Vitamine E
LPAL13_250020200	P62826	70.87	8.00E-108	310	95	No aprobados
LPAL13_340044100	P62829	76.74	3.00E-069	206	93	No aprobados
LPAL13_340044200	P62829	76.74	3.00E-069	206	93	No aprobados
LPAL13_340017700	P62837	73.65	5.00E-082	239	100	No aprobados
LPAL13_220005300	P62913	71.01	2.00E-089	261	90	No aprobados
LPAL13_320047600	P62917	61.66	3.00E-108	315	97	No aprobados
LPAL13_340019000	P62917	61.66	3.00E-108	315	97	No aprobados
LPAL13_250015300	P62937	70.3	3.00E-080	237	93	cyclosporine
LPAL13_330024100	P62937	64.74	1.00E-075	227	77	cyclosporine
LPAL13_250019100	P67775	72.61	5.00E-172	481	96	Vitamin E
LPAL13_170005000	P68104	75.87	0	731	100	No aprobados
LPAL13_040019300	P68133	71.05	0	590	99	No aprobados
LPAL13_290030000	P68363	82.92	0	780	97	No aprobados
LPAL13_290030000	P68366	80.22	0	765	99	Vincristine-podofilox-cabazitaxel

LPAL13_210025500	P68371	85.09	5.00E-103	305	91	Albendazole-mebendazole
LPAL13_340005200	P68371	85.9	9.00E-152	432	93	Albendazole-mebendazole
LPAL13_330013200	P68371	85.19	5.00E-086	260	89	Albendazole-mebendazole
LPAL13_000036800	P68371	83.7	5.00E-085	257	89	Albendazole-mebendazole
LPAL13_000042100	P68371	85.48	0	773	96	Albendazole-mebendazole
LPAL13_310028000	P84077	69.49	1.00E-092	270	97	No aprobados
LPAL13_310034500	P84077	75.88	3.00E-098	283	96	No aprobados
LPAL13_290030000	P87066	68.08	0	632	99	Griseofulvin
LPAL13_230008300	Q01782	73.26	2.00E-154	435	100	No aprobados
LPAL13_280011000	Q06609	72.31	2.00E-170	481	87	No aprobados
LPAL13_210025500	Q13509	80.68	2.00E-105	311	99	Ixabepilone
LPAL13_340005200	Q13509	81.82	1.00E-152	434	99	Ixabepilone
LPAL13_330013200	Q13509	80.26	8.00E-089	267	100	Ixabepilone
LPAL13_000036800	Q13509	79.61	1.00E-087	265	100	Ixabepilone
LPAL13_000042100	Q13509	81	0	758	100	Ixabepilone
LPAL13_290030000	Q13748	83.6	0	783	97	No aprobados
LPAL13_210025500	Q13885	84.66	3.00E-104	308	92	No aprobados
LPAL13_340005200	Q13885	85.15	1.00E-151	432	94	No aprobados
LPAL13_330013200	Q13885	84.67	4.00E-087	263	91	No aprobados
LPAL13_000036800	Q13885	83.21	4.00E-086	260	91	No aprobados
LPAL13_000042100	Q13885	84.85	0	773	97	No aprobados
LPAL13_230026900	Q57VC7	65.52	8.00E-068	204	94	No aprobados
LPAL13_290030000	Q6PEY2	82.46	0	768	97	No aprobados
LPAL13_290030000	Q71U36	83.37	0	783	97	Albendazole-mebendazole- vinblastine
LPAL13_000032500	Q7K9G0	84.32	0	661	100	No aprobados
LPAL13_270028800	Q7LG56	61.85	3.00E-145	418	84	Cladribine
LPAL13_220015100	Q7LG56	61.85	3.00E-145	418	83	Cladribine
LPAL13_000018900	Q8ZKF6	61.06	4.00E-090	280	97	No aprobados
LPAL13_270014500	Q92930	60.12	2.00E-075	227	87	No aprobados
LPAL13_040016200	Q96L21	69.57	2.00E-090	266	86	No aprobados
LPAL13_040015800	Q96L21	70.11	1.00E-091	269	86	No aprobados
LPAL13_290030000	Q9BQE3	82.26	0	790	100	No aprobados
LPAL13_210025500	Q9BUF5	78.31	3.00E-098	292	94	No aprobados
LPAL13_340005200	Q9BUF5	80.6	2.00E-145	416	95	No aprobados
LPAL13_330013200	Q9BUF5	77.14	3.00E-081	248	93	No aprobados
LPAL13_000036800	Q9BUF5	76.43	4.00E-080	244	93	No aprobados
LPAL13_000042100	Q9BUF5	80.56	0	738	98	No aprobados
LPAL13_210025500	Q9BVA1	84.66	4.00E-104	308	92	No aprobados
LPAL13_340005200	Q9BVA1	85.22	6.00E-153	435	94	No aprobados
LPAL13_330013200	Q9BVA1	84.67	5.00E-087	263	91	No aprobados
LPAL13_000036800	Q9BVA1	83.21	5.00E-086	260	91	No aprobados

LPAL13_000042100	Q9BVA1	84.85	0	773	97	No aprobados
LPAL13_310026900	Q9GV41	60.07	1.00E-122	353	96	No aprobados
LPAL13_210025500	Q9H4B7	70.99	2.00E-085	259	92	Vindesine-paclitaxel-docetaxel-cabazitaxel-colchine
LPAL13_340005200	Q9H4B7	74.56	6.00E-131	379	93	Vindesine-paclitaxel-docetaxel-cabazitaxel-colchine
LPAL13_330013200	Q9H4B7	68.38	2.00E-068	214	90	Vindesine-paclitaxel-docetaxel-cabazitaxel-colchine
LPAL13_000036800	Q9H4B7	68.38	2.00E-068	214	90	Vindesine-paclitaxel-docetaxel-cabazitaxel-colchine
LPAL13_000042100	Q9H4B7	73.13	0	660	97	Vindesine-paclitaxel-docetaxel-cabazitaxel-colchine
LPAL13_000016500	Q9NR19	60.89	8.00E-094	290	99	Vindesine-paclitaxel-docetaxel-cabazitaxel-colchine
LPAL13_290030000	Q9NY65	78.36	0	742	97	Vindesine-paclitaxel-docetaxel-cabazitaxel-colchine
LPAL13_270017700	Q9Y697	65.25	0	577	96	Vindesine-paclitaxel-docetaxel-cabazitaxel-colchine

### **Anexo I-c. Leishmania major**

<b>Proteína del Parásito</b>	<b>Blanco</b>	<b>% Identidad</b>	<b>Valor e</b>	<b>Puntaje</b>	<b>% Cubrimiento</b>	<b>Medicamentos</b>
LmjF.33.0819	F1L7U3	80.82	0	759	99	Albendazole
LmjF.33.0802	F1L7U3	80.82	0	759	99	Albendazole
LmjF.21.1860	F1L7U3	81.05	0	760	99	Albendazole
LmjF.33.0808	F1L7U3	80.82	0	759	99	Albendazole
LmjF.33.0814	F1L7U3	80.82	0	759	99	Albendazole
LmjF.33.0810	F1L7U3	80.82	0	759	99	Albendazole
LmjF.33.0818	F1L7U3	80.82	0	759	99	Albendazole
LmjF.33.0794	F1L7U3	80.82	0	759	99	Albendazole
LmjF.33.0800	F1L7U3	80.82	0	759	99	Albendazole
LmjF.33.0796	F1L7U3	80.82	0	759	99	Albendazole
LmjF.08.1230	F1L7U3	80.82	0	759	99	Albendazole
LmjF.33.0792	F1L7U3	80.82	0	759	99	Albendazole
LmjF.27.0740	O75251	60.14	1.00E-067	207	74	Doxorubicin
LmjF.10.0290	O75874	64.74	0	548	91	NO aprobados
LmjF.33.0819	P04350	85.25	0	775	96	NO aprobados
LmjF.33.0812	P04350	85.25	0	775	96	NO aprobados
LmjF.33.0804	P04350	85.25	0	775	96	NO aprobados
LmjF.33.0798	P04350	85.25	0	775	96	NO aprobados
LmjF.33.0802	P04350	85.25	0	775	96	NO aprobados

LmjF.33.0820	P04350	85.25	0	775	96	NO aprobados
LmjF.33.0800	P04350	85.25	0	775	96	NO aprobados
LmjF.33.0796	P04350	85.25	0	775	96	NO aprobados
LmjF.08.1230	P04350	85.48	0	775	96	NO aprobados
LmjF.33.0792	P04350	85.25	0	775	96	NO aprobados
LmjF.36.2350	P04406	63.25	9.00E-147	419	100	NO aprobados
LmjF.28.0490	P05166	62.35	0	629	93	biotin
LmjF.25.1180	P06576	64.6	0	644	95	NO aprobados
LmjF.25.1170	P06576	64.6	0	644	95	NO aprobados
LmjF.33.0819	P07437	85.55	0	782	97	Vinorelbine-vinblastine-colchicine-podofilox-vincristine
LmjF.33.0812	P07437	85.55	0	782	97	Vinorelbine-vinblastine-colchicine-podofilox-vincristine
LmjF.33.0814	P07437	85.55	0	782	97	Vinorelbine-vinblastine-colchicine-podofilox-vincristine
LmjF.33.0810	P07437	85.55	0	782	97	Vinorelbine-vinblastine-colchicine-podofilox-vincristine
LmjF.33.0818	P07437	85.55	0	782	97	Vinorelbine-vinblastine-colchicine-podofilox-vincristine
LmjF.33.0794	P07437	85.55	0	782	97	Vinorelbine-vinblastine-colchicine-podofilox-vincristine
LmjF.33.0816	P07437	85.55	0	782	97	Vinorelbine-vinblastine-colchicine-podofilox-vincristine
LmjF.33.0806	P07437	85.55	0	782	97	Vinorelbine-vinblastine-colchicine-podofilox-vincristine
LmjF.33.0820	P07437	85.55	0	782	97	Vinorelbine-vinblastine-colchicine-podofilox-vincristine
LmjF.33.0800	P07437	85.55	0	782	97	Vinorelbine-vinblastine-colchicine-podofilox-vincristine
LmjF.33.0796	P07437	85.55	0	782	97	Vinorelbine-vinblastine-colchicine-podofilox-vincristine
LmjF.08.1230	P07437	85.31	0	780	97	Vinorelbine-vinblastine-colchicine-podofilox-vincristine
LmjF.33.0792	P07437	85.55	0	782	97	Vinorelbine-vinblastine-colchicine-podofilox-vincristine
LmjF.33.0360	P07900	62.29	0	870	100	Rifabutim-nedocromil
LmjF.33.0316	P07900	62.29	0	870	100	Rifabutim-nedocromil
LmjF.33.0320	P07900	62.29	0	870	100	Rifabutim-nedocromil
LmjF.33.0326	P07900	62.29	0	870	100	Rifabutim-nedocromil
LmjF.33.0318	P07900	62.29	0	869	100	Rifabutim-nedocromil
LmjF.33.0350	P07900	62.29	0	870	100	Rifabutim-nedocromil
LmjF.33.0343	P07900	62.29	0	870	100	Rifabutim-nedocromil
LmjF.33.0323	P07900	62.29	0	870	100	Rifabutim-nedocromil
LmjF.33.0312	P07900	62.29	0	870	100	Rifabutim-nedocromil
LmjF.33.0365	P07900	62.29	0	870	100	Rifabutim-nedocromil

LmjF.33.0336	P07900	62.29	0	870	100	Rifabutim-nedocromil
LmjF.33.0330	P07900	62.29	0	869	100	Rifabutim-nedocromil
LmjF.33.0333	P07900	62.29	0	870	100	Rifabutim-nedocromil
LmjF.33.0360	P08238	62.5	0	852	100	NO aprobados
LmjF.33.0316	P08238	62.5	0	852	100	NO aprobados
LmjF.33.0355	P08238	62.5	0	852	100	NO aprobados
LmjF.33.0346	P08238	62.5	0	852	100	NO aprobados
LmjF.33.0340	P08238	62.5	0	852	100	NO aprobados
LmjF.33.0314	P08238	62.5	0	852	100	NO aprobados
LmjF.33.0320	P08238	62.5	0	852	100	NO aprobados
LmjF.33.0326	P08238	62.5	0	852	100	NO aprobados
LmjF.33.0318	P08238	62.59	0	856	100	NO aprobados
LmjF.33.0350	P08238	62.5	0	852	100	NO aprobados
LmjF.33.0343	P08238	62.5	0	852	100	NO aprobados
LmjF.33.0323	P08238	62.5	0	852	100	NO aprobados
LmjF.33.0312	P08238	62.5	0	852	100	NO aprobados
LmjF.33.0365	P08238	62.5	0	852	100	NO aprobados
LmjF.33.0336	P08238	62.5	0	852	100	NO aprobados
LmjF.33.0330	P08238	62.59	0	856	100	NO aprobados
LmjF.33.0333	P08238	62.5	0	852	100	NO aprobados
LmjF.14.1160	P09104	61.12	0	520	100	NO aprobados
LmjF.36.2350	P0A9B2	75.99	0	512	99	NO aprobados
LmjF.36.3530	P0CG48	97.23	0	1322	82	NO aprobados
LmjF.36.3530	P0CG48	97.23	0	1322	82	NO aprobados
LmjF.36.3530	P0CG48	97.23	0	1322	82	NO aprobados
LmjF.33.0819	P10875	71.59	0	672	99	Griseofulvin
LmjF.33.0812	P10875	71.59	0	672	99	Griseofulvin
LmjF.33.0804	P10875	71.59	0	672	99	Griseofulvin
LmjF.33.0798	P10875	71.59	0	672	99	Griseofulvin
LmjF.33.0802	P10875	71.59	0	672	99	Griseofulvin
LmjF.21.1860	P10875	72.05	0	675	99	Griseofulvin
LmjF.33.0808	P10875	71.59	0	672	99	Griseofulvin
LmjF.33.0814	P10875	71.59	0	672	99	Griseofulvin
LmjF.33.0810	P10875	71.59	0	672	99	Griseofulvin
LmjF.33.0818	P10875	71.59	0	672	99	Griseofulvin
LmjF.33.0794	P10875	71.59	0	672	99	Griseofulvin
LmjF.33.0816	P10875	71.59	0	672	99	Griseofulvin
LmjF.33.0806	P10875	71.59	0	672	99	Griseofulvin
LmjF.33.0820	P10875	71.59	0	672	99	Griseofulvin
LmjF.33.0800	P10875	71.59	0	672	99	Griseofulvin
LmjF.33.0796	P10875	71.59	0	672	99	Griseofulvin

LmjF.08.1230	P10875	72.05	0	676	99	Griseofulvin
LmjF.33.0792	P10875	71.59	0	672	99	Griseofulvin
LmjF.28.2780	P11021	64.32	0	806	95	acetylsalicylic acid
LmjF.28.2770	P11021	64.32	0	806	95	acetylsalicylic acid
LmjF.28.1200	P11021	64.33	0	816	95	acetylsalicylic acid
LmjF.28.2780	P11142	73.81	0	940	93	NO aprobados
LmjF.28.2770	P11142	73.81	0	940	93	NO aprobados
LmjF.28.1200	P11142	63.11	0	786	93	NO aprobados
LmjF.26.1240	P11142	64.76	0	830	96	NO aprobados
LmjF.25.1710	P11177	60.61	3.00E-148	424	94	
LmjF.36.0180	P13639	61.53	0	1060	100	NO aprobados
LmjF.36.0190	P13639	61.53	0	1060	100	NO aprobados
LmjF.14.1160	P13929	60.42	0	517	100	NO aprobados
LmjF.32.2950	P15531	64.67	1.00E-070	211	99	Tenofovir- Lamivudina- adefovir
LmjF.31.2280	P18085	66.29	2.00E-087	256	98	NO aprobados
LmjF.31.2790	P18085	70.76	1.00E-091	266	96	NO aprobados
LmjF.28.2430	P21281	72.69	0	721	96	gallium nitrate
LmjF.27.0300	P22033	62.89	0	910	98	Hydroxocobalamin- cyanocobalamin
LmjF.32.2950	P22392	65.54	6.00E-072	214	98	Tenofovir- Lamivudina- adefovir
LmjF.30.2980	P22513	82.58	0	633	99	NO aprobados
LmjF.30.2970	P22513	82.3	0	630	99	NO aprobados
LmjF.25.0960	P23258	65.4	0	617	100	Vinblastine
LmjF.06.0120	P23284	63.86	5.00E-072	218	89	
LmjF.36.3910	P23526	71.43	0	624	99	Proline
LmjF.35.0370	P26196	66.08	0	587	99	NO aprobados
LmjF.05.0350	P28593	66.8	0	687	99	FAD
LmjF.25.0910	P30405	70.3	7.00E-082	243	93	cyclosporine
LmjF.33.1630	P30405	65.12	3.00E-077	233	78	cyclosporine
LmjF.30.3520	P31153	62.27	1.00E-161	461	99	SAM
LmjF.30.3500	P31153	62.27	1.00E-161	461	99	SAM
LmjF.27.2050	P31350	63.64	6.00E-156	447	85	Cladribine
LmjF.34.0800	P36873	61.09	5.00E-136	390	98	NO aprobados
LmjF.34.0810	P36873	61.77	3.00E-138	395	97	NO aprobados
LmjF.31.2630	P36873	67.53	2.00E-146	419	74	NO aprobados
LmjF.34.0790	P36873	63.23	1.00E-140	402	96	NO aprobados
LmjF.28.0690	P36873	75	2.00E-178	498	98	NO aprobados
LmjF.34.0780	P36873	62.81	1.00E-136	391	96	NO aprobados
LmjF.34.3670	P38606	65.79	0	815	99	Alendronate- tiludronate- etidronic acid
LmjF.10.0290	P48735	67.15	0	594	94	NO aprobados
LmjF.05.0980	P49821	71.09	0	639	88	NO aprobados

LmjF.24.0850	P52270	68.53	5.00E-133	377	100	NO aprobados
LmjF.25.2130	P53597	66.78	1.00E-118	347	100	Succinic acid
LmjF.25.2140	P53597	66.78	1.00E-118	347	100	Succinic acid
LmjF.36.1370	P55072	74.17	0	1141	96	NO aprobados
LmjF.34.0800	P62136	61.13	4.00E-137	393	100	NO aprobados
LmjF.34.0810	P62136	61.59	1.00E-138	397	100	NO aprobados
LmjF.31.2630	P62136	67.9	5.00E-146	418	74	NO aprobados
LmjF.34.0790	P62136	62.63	4.00E-139	398	95	NO aprobados
LmjF.28.0690	P62136	73.09	4.00E-176	492	100	NO aprobados
LmjF.34.0780	P62136	63.86	3.00E-138	396	96	NO aprobados
LmjF.09.0920	P62158	89.93	3.00E-097	278	100	Chlorpromazine-cinchocaine-nicardipine-Fluphenazine-trifluoperazine-loperamide-perphenazine-phenoxybenzamine-felodipine
LmjF.09.0930	P62158	89.93	3.00E-097	278	100	Chlorpromazine-cinchocaine-nicardipine-Fluphenazine-trifluoperazine-loperamide-perphenazine-phenoxybenzamine-felodipine
LmjF.09.0910	P62158	89.93	3.00E-097	278	100	Chlorpromazine-cinchocaine-nicardipine-Fluphenazine-trifluoperazine-loperamide-perphenazine-phenoxybenzamine-felodipine
LmjF.31.2790	P62330	64.94	3.00E-084	248	98	NO aprobados
LmjF.25.1320	P62714	72.43	6.00E-172	481	95	Vitamine E
LmjF.25.1420	P62826	70.87	1.00E-107	310	95	NO aprobados
LmjF.35.3790	P62829	75.97	5.00E-069	206	93	NO aprobados
LmjF.35.3800	P62829	75.97	5.00E-069	206	93	NO aprobados
LmjF.35.1300	P62837	73.65	8.00E-082	239	100	NO aprobados
LmjF.04.0470	P62913	71.6	3.00E-090	263	90	NO aprobados
LmjF.22.0030	P62913	71.6	3.00E-090	263	90	NO aprobados
LmjF.35.1440	P62917	61.66	1.00E-107	313	97	NO aprobados
LmjF.35.1430	P62917	61.66	1.00E-107	313	97	NO aprobados
LmjF.32.3900	P62917	61.66	1.00E-107	313	97	NO aprobados
LmjF.25.0910	P62937	69.7	9.00E-081	238	93	cyclosporine
LmjF.33.1630	P62937	63.58	5.00E-074	223	79	cyclosporine
LmjF.25.1320	P67775	72.76	9.00E-172	481	95	Vitamin E
LmjF.17.0081	P68104	75.65	0	730	100	NO aprobados
LmjF.17.0080	P68104	75.65	0	730	100	NO aprobados
LmjF.17.0086	P68104	75.65	0	730	102	NO aprobados
LmjF.04.1230	P68133	70.4	0	590	100	NO aprobados
LmjF.13.0280	P68363	82.92	0	779	97	NO aprobados

LmjF.13.0370	P68363	82.92	0	779	97	NO aprobados
LmjF.13.0340	P68363	82.92	0	779	97	NO aprobados
LmjF.13.0310	P68363	82.92	0	779	97	NO aprobados
LmjF.13.0360	P68363	82.92	0	779	97	NO aprobados
LmjF.13.0300	P68363	82.92	0	779	97	NO aprobados
LmjF.13.0290	P68363	82.92	0	779	97	NO aprobados
LmjF.13.0320	P68363	82.92	0	779	97	NO aprobados
LmjF.13.0280	P68366	80.22	0	764	99	Vincristine- podofilox-cabazitaxel
LmjF.13.0350	P68366	80.22	0	764	99	Vincristine- podofilox-cabazitaxel
LmjF.13.0380	P68366	80.22	0	764	99	Vincristine- podofilox-cabazitaxel
LmjF.13.0330	P68366	80.22	0	764	99	Vincristine- podofilox-cabazitaxel
LmjF.13.0390	P68366	80.22	0	764	99	Vincristine- podofilox-cabazitaxel
LmjF.13.0370	P68366	80.22	0	764	99	Vincristine- podofilox-cabazitaxel
LmjF.13.0340	P68366	80.22	0	764	99	Vincristine- podofilox-cabazitaxel
LmjF.13.0310	P68366	80.22	0	764	99	Vincristine- podofilox-cabazitaxel
LmjF.33.0814	P68371	86.42	0	783	96	Albendazole-mebendazole
LmjF.33.0810	P68371	86.42	0	783	96	Albendazole-mebendazole
LmjF.33.0818	P68371	86.42	0	783	96	Albendazole-mebendazole
LmjF.33.0794	P68371	86.42	0	783	96	Albendazole-mebendazole
LmjF.33.0816	P68371	86.42	0	783	96	Albendazole-mebendazole
LmjF.33.0806	P68371	86.42	0	783	96	Albendazole-mebendazole
LmjF.33.0820	P68371	86.42	0	783	96	Albendazole-mebendazole
LmjF.33.0800	P68371	86.42	0	783	96	Albendazole-mebendazole
LmjF.33.0796	P68371	86.42	0	783	96	Albendazole-mebendazole
LmjF.08.1230	P68371	86.65	0	785	96	Albendazole-mebendazole
LmjF.33.0792	P68371	86.42	0	783	96	Albendazole-mebendazole
LmjF.31.2280	P84077	69.49	1.00E-091	266	97	NO aprobados
LmjF.31.2790	P84077	75.29	2.00E-097	281	96	NO aprobados
LmjF.13.0280	P87066	67.86	0	630	99	Griseofulvin
LmjF.13.0350	P87066	67.86	0	630	99	Griseofulvin
LmjF.13.0380	P87066	67.86	0	630	99	Griseofulvin
LmjF.13.0330	P87066	67.86	0	630	99	Griseofulvin
LmjF.13.0390	P87066	67.86	0	630	99	Griseofulvin
LmjF.13.0370	P87066	67.86	0	630	99	Griseofulvin
LmjF.13.0340	P87066	67.86	0	630	99	Griseofulvin
LmjF.13.0310	P87066	67.86	0	630	99	Griseofulvin
LmjF.13.0360	P87066	67.86	0	630	99	Griseofulvin
LmjF.13.0300	P87066	67.86	0	630	99	Griseofulvin
LmjF.13.0290	P87066	67.86	0	630	99	Griseofulvin
LmjF.13.0320	P87066	67.86	0	630	99	Griseofulvin
LmjF.23.0270	Q01782	99.65	0	588	100	NO aprobados

LmjF.28.0550	Q06609	70.33	4.00E-172	486	89	NO aprobados
LmjF.33.0819	Q13509	82.35	0	768	100	Ixabepilone
LmjF.33.0818	Q13509	82.35	0	768	100	Ixabepilone
LmjF.33.0794	Q13509	82.35	0	768	100	Ixabepilone
LmjF.33.0816	Q13509	82.35	0	768	100	Ixabepilone
LmjF.33.0806	Q13509	82.35	0	768	100	Ixabepilone
LmjF.33.0820	Q13509	82.35	0	768	100	Ixabepilone
LmjF.33.0800	Q13509	82.35	0	768	100	Ixabepilone
LmjF.33.0796	Q13509	82.35	0	768	100	Ixabepilone
LmjF.08.1230	Q13509	82.09	0	767	100	Ixabepilone
LmjF.33.0792	Q13509	82.35	0	768	100	Ixabepilone
LmjF.13.0280	Q13748	83.6	0	783	97	NO aprobados
LmjF.13.0350	Q13748	83.6	0	783	97	NO aprobados
LmjF.13.0380	Q13748	83.6	0	783	97	NO aprobados
LmjF.13.0330	Q13748	83.6	0	783	97	NO aprobados
LmjF.33.0796	Q13885	85.78	0	782	97	NO aprobados
LmjF.08.1230	Q13885	85.55	0	781	97	NO aprobados
LmjF.33.0792	Q13885	85.78	0	782	97	NO aprobados
LmjF.23.1580	Q57VC7	69.86	2.00E-071	213	94	NO aprobados
LmjF.13.0280	Q6PEY2	82.46	0	768	97	NO aprobados
LmjF.13.0350	Q6PEY2	82.46	0	768	97	NO aprobados
LmjF.13.0380	Q6PEY2	82.46	0	768	97	NO aprobados
LmjF.13.0330	Q6PEY2	82.46	0	768	97	NO aprobados
LmjF.13.0390	Q6PEY2	82.46	0	768	97	NO aprobados
LmjF.13.0330	Q71U36	83.37	0	782	97	Albendazole- Vinblastine- Mebendazole
LmjF.13.0390	Q71U36	83.37	0	782	97	Albendazole- Vinblastine- Mebendazole
LmjF.13.0370	Q71U36	83.37	0	782	97	Albendazole- Vinblastine- Mebendazole
LmjF.13.0340	Q71U36	83.37	0	782	97	Albendazole- Vinblastine- Mebendazole
LmjF.13.0310	Q71U36	83.37	0	782	97	Albendazole- Vinblastine- Mebendazole
LmjF.13.0360	Q71U36	83.37	0	782	97	Albendazole- Vinblastine- Mebendazole
LmjF.13.0300	Q71U36	83.37	0	782	97	Albendazole- Vinblastine- Mebendazole
LmjF.13.0290	Q71U36	83.37	0	782	97	Albendazole- Vinblastine- Mebendazole
LmjF.13.0320	Q71U36	83.37	0	782	97	Albendazole- Vinblastine- Mebendazole
LmjF.05.0970	Q7K9G0	100	0	771	100	NO aprobados
LmjF.04.0950	Q96L21	63.21	5.00E-092	270	100	NO aprobados

LmjF.04.0750	Q96L21	63.21	5.00E-092	270	100	NO aprobados
LmjF.13.0280	Q9BQE3	82.26	0	789	100	NO aprobados
LmjF.13.0350	Q9BQE3	82.26	0	789	100	NO aprobados
LmjF.13.0380	Q9BQE3	82.26	0	789	100	NO aprobados
LmjF.13.0330	Q9BQE3	82.26	0	789	100	NO aprobados
LmjF.33.0814	Q9BUF5	81.94	0	748	98	NO aprobados
LmjF.33.0810	Q9BUF5	81.94	0	748	98	NO aprobados
LmjF.33.0818	Q9BUF5	81.94	0	748	98	NO aprobados
LmjF.33.0794	Q9BUF5	81.94	0	748	98	NO aprobados
LmjF.33.0816	Q9BUF5	81.94	0	748	98	NO aprobados
LmjF.33.0806	Q9BUF5	81.94	0	748	98	NO aprobados
LmjF.33.0820	Q9BUF5	81.94	0	748	98	NO aprobados
LmjF.33.0808	Q9BVA1	85.78	0	783	97	NO aprobados
LmjF.33.0814	Q9BVA1	85.78	0	783	97	NO aprobados
LmjF.33.0810	Q9BVA1	85.78	0	783	97	NO aprobados
LmjF.33.0818	Q9BVA1	85.78	0	783	97	NO aprobados
LmjF.33.0794	Q9BVA1	85.78	0	783	97	NO aprobados
LmjF.33.0816	Q9BVA1	85.78	0	783	97	NO aprobados
LmjF.33.0806	Q9BVA1	85.78	0	783	97	NO aprobados
LmjF.33.0820	Q9BVA1	85.78	0	783	97	NO aprobados
LmjF.33.0800	Q9BVA1	85.78	0	783	97	NO aprobados
LmjF.33.0796	Q9BVA1	85.78	0	783	97	NO aprobados
LmjF.08.1230	Q9BVA1	85.55	0	782	97	NO aprobados
LmjF.33.0792	Q9BVA1	85.78	0	783	97	NO aprobados
LmjF.31.2150	Q9GV41	61.4	8.00E-124	356	96	NO aprobados
LmjF.33.0808	Q9H4B7	73.83	0	667	97	Vindesine- Paclitaxel- Docetaxel- Colchicine- Cabazitaxel
LmjF.33.0814	Q9H4B7	73.83	0	667	97	Vindesine- Paclitaxel- Docetaxel- Colchicine- Cabazitaxel
LmjF.33.0810	Q9H4B7	73.83	0	667	97	Vindesine- Paclitaxel- Docetaxel- Colchicine- Cabazitaxel
LmjF.33.0818	Q9H4B7	73.83	0	667	97	Vindesine- Paclitaxel- Docetaxel- Colchicine- Cabazitaxel
LmjF.33.0794	Q9H4B7	73.83	0	667	97	Vindesine- Paclitaxel- Docetaxel- Colchicine- Cabazitaxel
LmjF.33.0816	Q9H4B7	73.83	0	667	97	Vindesine- Paclitaxel- Docetaxel- Colchicine- Cabazitaxel
LmjF.33.0806	Q9H4B7	73.83	0	667	97	Vindesine- Paclitaxel- Docetaxel- Colchicine- Cabazitaxel
LmjF.33.0820	Q9H4B7	73.83	0	667	97	Vindesine- Paclitaxel- Docetaxel- Colchicine- Cabazitaxel
LmjF.33.0800	Q9H4B7	73.83	0	667	97	Vindesine- Paclitaxel- Docetaxel- Colchicine- Cabazitaxel

LmjF.33.0796	Q9H4B7	73.83	0	667	97	Vindesine- Paclitaxel- Docetaxel- Colchicine- Cabazitaxel
LmjF.08.1230	Q9H4B7	73.6	0	667	97	Vindesine- Paclitaxel- Docetaxel- Colchicine- Cabazitaxel
LmjF.33.0792	Q9H4B7	73.83	0	667	97	NO aprobados
LmjF.13.0370	Q9NY65	78.36	0	741	97	NO aprobados
LmjF.13.0340	Q9NY65	78.36	0	741	97	NO aprobados
LmjF.13.0310	Q9NY65	78.36	0	741	97	NO aprobados
LmjF.13.0360	Q9NY65	78.36	0	741	97	NO aprobados
LmjF.13.0300	Q9NY65	78.36	0	741	97	NO aprobados
LmjF.13.0290	Q9NY65	78.36	0	741	97	NO aprobados
LmjF.13.0320	Q9NY65	78.36	0	741	97	NO aprobados
LmjF.23.0490	Q9Y478	60.84	6.00E-021	219	74	Metformin
LmjF.27.1060	Q9Y697	64.75	0	576	95	L-Cysteine L-Alanine

#### **Anexo I-d. Leishmania braziliensis**

<b>Proteína del Parásito</b>	<b>Blanco</b>	<b>% Identidad</b>	<b>Valor e</b>	<b>Puntaje</b>	<b>% Cubrimiento</b>	<b>Medicamentos</b>
LbrM.33.0950	F1L7U3	78.8	4.00E-134	387	97	Albendazole
LbrM.33.0920	F1L7U3	80.37	0	757	99	Albendazole
LbrM.33.0930	F1L7U3	80.59	0	758	99	Albendazole
LbrM.33.0960	F1L7U3	80.37	0	757	99	Albendazole
LbrM.33.1010	F1L7U3	77.33	3.00E-102	303	97	Albendazole
LbrM.33.0990	F1L7U3	80.46	3.00E-095	285	99	Albendazole
LbrM.21.2150	F1L7U3	80.82	0	758	99	Albendazole
LbrM.27.0820	O75251	60.14	1.00E-067	207	74	Doxorubicin
LbrM.10.0310	O75874	65.49	0	548	91	Doxorubicin
LbrM.33.0950	P04350	83.98	9.00E-134	385	92	NO aprobados
LbrM.33.0920	P04350	85.25	0	773	96	NO aprobados
LbrM.33.0930	P04350	85.25	0	774	96	NO aprobados
LbrM.33.0960	P04350	85.25	0	773	96	NO aprobados
LbrM.33.1010	P04350	83.23	5.00E-101	300	91	NO aprobados
LbrM.33.0990	P04350	83.91	4.00E-101	300	99	NO aprobados
LbrM.21.2150	P04350	85.25	0	774	96	NO aprobados
LbrM.28.0510	P05166	61.86	0	625	93	Biotin L-valin
LbrM.25.1150	P06576	64.84	0	642	94	NO aprobados
LbrM.25.2500	P06576	70.17	1.00E-120	356	92	NO aprobados
LbrM.33.0950	P07437	85.1	7.00E-137	393	93	Colchicine- Podofilox- Vinblastine- Vincristine- Vinorelbine

LbrM.33.0920	P07437	85.55	0	781	97	Colchicine- Podofilox- Vinblastine- Vincristine- Vinorelbine
LbrM.33.0930	P07437	85.55	0	781	97	Colchicine- Podofilox- Vinblastine- Vincristine- Vinorelbine
LbrM.33.0960	P07437	85.55	0	781	97	Colchicine- Podofilox- Vinblastine- Vincristine- Vinorelbine
LbrM.33.1010	P07437	84.66	4.00E-104	308	92	Colchicine- Podofilox- Vinblastine- Vincristine- Vinorelbine
LbrM.33.0990	P07437	83.33	4.00E-101	300	99	Colchicine- Podofilox- Vinblastine- Vincristine- Vinorelbine
LbrM.21.2150	P07437	85.55	0	781	97	Colchicine- Podofilox- Vinblastine- Vincristine- Vinorelbine
LbrM.33.0330	P07900	62.43	1.00E-148	439	100	Nedocromil- teno
LbrM.33.0340	P07900	63.27	0	875	100	Nedocromil- Rifabutin
LbrM.33.0350	P07900	63.09	2.00E-160	470	100	Nedocromil- Rifabutin
LbrM.33.0330	P08238	61.98	2.00E-150	443	100	NO aprobados
LbrM.33.0340	P08238	62.92	0	860	100	NO aprobados
LbrM.33.0350	P08238	62.57	2.00E-156	459	100	NO aprobados
LbrM.14.1330	P09104	60.42	0	514	100	NO aprobados
LbrM.27.0960	P09210	60.21	8.00E-011	216	71	Chloroquine
LbrM.33.0950	P10875	71.69	5.00E-121	353	98	Griseofulvin
LbrM.33.0920	P10875	71.36	0	671	99	Griseofulvin
LbrM.33.0930	P10875	71.36	0	672	99	Griseofulvin
LbrM.33.0960	P10875	71.36	0	671	99	Griseofulvin
LbrM.33.1010	P10875	69.54	2.00E-091	275	98	Griseofulvin
LbrM.33.0990	P10875	67.82	9.00E-079	242	99	Griseofulvin
LbrM.21.2150	P10875	71.59	0	671	99	Griseofulvin
LbrM.28.2990	P11021	63.49	0	802	96	Acetylsalicylic acid- Antihemophilic Factor (Recombinant)
LbrM.28.2980	P11021	74.48	1.00E-116	349	97	Acetylsalicylic acid- Antihemophilic Factor (Recombinant)
LbrM.28.1300	P11021	63.96	0	814	95	Acetylsalicylic acid- Antihemophilic Factor (Recombinant)
LbrM.26.1260	P11142	64.93	0	833	95	NO aprobados
LbrM.28.2990	P11142	73	0	925	93	NO aprobados
LbrM.28.2980	P11142	78.84	1.00E-129	382	98	NO aprobados
LbrM.28.1300	P11142	63.18	0	791	93	NO aprobados
LbrM.25.2280	P11177	60.06	4.00E-147	421	99	Pyruvic acid
LbrM.06.0870	P11310	60.32	1.00E-166	476	91	Flavin adenine dinucleotide

LbrM.06.0850	P11310	60.58	5.00E-167	481	74	Flavin adenine dinucleotide
LbrM.30.2550	P11586	60.13	0	735	100	Tetrahydrofolic acid
LbrM.35.0270	P13639	61.41	0	1061	100	NO aprobados
LbrM.35.0250	P13639	65.24	1.00E-083	265	100	NO aprobados
LbrM.35.0260	P13639	63.98	2.00E-088	280	100	NO aprobados
LbrM.14.1330	P13929	60.98	3.00E-180	512	100	NO aprobados
LbrM.32.3210	P15531	65.33	2.00E-071	213	99	Tenofovir- Lamivudine- Adefovir Dipivoxil
LbrM.31.3150	P18085	70.76	3.00E-091	266	96	NO aprobados
LbrM.31.2550	P18085	66.85	1.00E-088	259	98	NO aprobados
LbrM.28.2630	P21281	72.48	0	718	96	Gallium nitrate
LbrM.27.0310	P22033	62.46	0	904	98	Cyanocobalamin- Hydroxocobalamin
LbrM.32.3210	P22392	65.54	2.00E-071	213	98	Tenofovir- Lamivudine- Adefovir Dipivoxil
LbrM.30.2950	P22513	83.29	0	625	98	NO aprobados
LbrM.25.0840	P23258	65.18	0	615	100	Vinblastine
LbrM.06.0100	P23284	60.31	5.00E-077	231	100	L-Proline
LbrM.35.4150	P23526	71.66	0	628	99	Isopropyl Alcohol
LbrM.35.4140	P23526	71.66	0	627	99	Isopropyl Alcohol
LbrM.05.0350	P28593	67.83	0	704	99	Flavin adenine dinucleotide
LbrM.33.1900	P30405	66.28	3.00E-079	237	88	L-Proline
LbrM.25.0790	P30405	68.48	4.00E-079	236	93	L-Proline
LbrM.06.0100	P30405	62.5	4.00E-065	200	86	L-Proline
LbrM.30.3550	P31153	62.02	1.00E-159	457	99	L-Methionine- S- Adenosylmethionine
LbrM.27.2230	P31350	63.03	2.00E-154	443	85	Gallium nitrate- Cladribine
LbrM.31.2970	P36873	64.95	1.00E-146	420	80	NO aprobados
LbrM.28.0710	P36873	75.68	4.00E-179	499	98	NO aprobados
LbrM.20.0710	P36873	61.94	4.00E-135	387	97	NO aprobados
LbrM.20.0730	P36873	61.43	2.00E-137	394	97	NO aprobados
LbrM.20.0720	P36873	62.81	2.00E-136	391	94	NO aprobados
LbrM.20.3260	P38606	65.56	0	811	99	Alendronate- Etidronic acid- Tiludronate
LbrM.32.3410	P39023	67.18	2.00E-057	184	100	Homoharringtonine
LbrM.10.0310	P48735	66.67	0	581	94	NO aprobados
LbrM.05.0980	P49821	71.8	0	642	88	NO aprobados
LbrM.20.5360	P52270	67.73	1.00E-131	374	100	NO aprobados
LbrM.25.1700	P53597	67.44	3.00E-119	348	100	Succinic acid
LbrM.25.1710	P53597	67.44	3.00E-119	348	100	Succinic acid
LbrM.35.1490	P55072	72.78	0	1118	96	NO aprobados
LbrM.31.2970	P62136	64.95	2.00E-146	419	80	NO aprobados
LbrM.28.0710	P62136	73.75	8.00E-177	494	100	NO aprobados

LbrM.20.0710	P62136	62.98	3.00E-136	390	97	NO aprobados
LbrM.20.0730	P62136	62.12	9.00E-138	395	97	NO aprobados
LbrM.20.0720	P62136	62.46	3.00E-135	388	94	NO aprobados
LbrM.09.0960	P62158	89.93	3.00E-097	278	100	Chlorpromazine- Cinchocaine- Nicardipine-Fluphenazine- Isoflurane-Trifluoperazine- Loperamide-Perphenazine- Phenoxybenzamine-Felodipine
LbrM.09.0980	P62158	89.93	3.00E-097	278	100	Chlorpromazine- Cinchocaine- Nicardipine-Fluphenazine- Isoflurane-Trifluoperazine- Loperamide-Perphenazine- Phenoxybenzamine-Felodipine
LbrM.09.0970	P62158	89.93	3.00E-097	278	100	Chlorpromazine- Cinchocaine- Nicardipine-Fluphenazine- Isoflurane-Trifluoperazine- Loperamide-Perphenazine- Phenoxybenzamine-Felodipine
LbrM.31.3150	P62330	65.52	9.00E-085	249	98	NO aprobados
LbrM.28.2880	P62714	61.68	3.00E-126	363	100	Vitamin E
LbrM.25.1290	P62714	73.76	8.00E-127	362	100	Vitamin E
LbrM.25.1010	P62714	64.23	2.00E-051	166	89	Vitamin E
LbrM.25.2050	P62826	70.87	8.00E-108	310	95	NO aprobados
LbrM.34.3780	P62829	76.74	3.00E-069	206	93	NO aprobados
LbrM.34.3770	P62829	76.74	3.00E-069	206	93	NO aprobados
LbrM.34.1220	P62837	74.32	2.00E-082	240	100	NO aprobados
LbrM.04.0520	P62913	71.01	2.00E-089	261	90	NO aprobados
LbrM.22.0030	P62913	71.01	2.00E-089	261	90	NO aprobados
LbrM.32.4140	P62917	61.66	3.00E-108	315	97	NO aprobados
LbrM.34.1350	P62917	61.66	3.00E-108	315	97	NO aprobados
LbrM.34.1360	P62917	61.66	3.00E-108	315	97	NO aprobados
LbrM.33.1900	P62937	64.74	8.00E-076	226	88	Cyclosporine-L-Proline
LbrM.25.0790	P62937	70.3	2.00E-080	237	93	Cyclosporine-L-Proline
LbrM.28.2880	P67775	61.31	9.00E-125	360	100	Vitamin E
LbrM.25.1290	P67775	73.3	1.00E-125	360	100	Vitamin E
LbrM.25.1010	P67775	65.04	6.00E-051	165	89	Vitamin E
LbrM.17.0090	P68104	76.09	0	733	100	NO aprobados
LbrM.04.1250	P68133	63.64	2.00E-087	263	100	NO aprobados
LbrM.13.0190	P68363	82.92	0	780	97	NO aprobados
LbrM.13.0200	P68363	82.92	0	780	97	NO aprobados
LbrM.29.2700	P68363	84.29	4.00E-120	352	74	NO aprobados
LbrM.13.0190	P68366	80.22	0	765	99	Vincristine- Podofilox- Cabazitaxel
LbrM.13.0200	P68366	80.22	0	765	99	Vincristine- Podofilox- Cabazitaxel

LbrM.29.2700	P68366	82.23	4.00E-120	352	76	Vincristine- Podofilox- Cabazitaxel
LbrM.33.0950	P68371	85.44	9.00E-136	390	92	Albendazole- Mebendazole- Oxibendazole
LbrM.33.0920	P68371	86.42	0	783	96	Albendazole- Mebendazole- Oxibendazole
LbrM.33.0930	P68371	86.42	0	783	96	Albendazole- Mebendazole- Oxibendazole
LbrM.33.0960	P68371	86.42	0	783	96	Albendazole- Mebendazole- Oxibendazole
LbrM.33.1010	P68371	85.09	4.00E-103	305	91	Albendazole- Mebendazole- Oxibendazole
LbrM.33.0990	P68371	85.06	1.00E-102	303	99	Albendazole- Mebendazole- Oxibendazole
LbrM.21.2150	P68371	86.42	0	783	96	Albendazole- Mebendazole- Oxibendazole
LbrM.31.3150	P84077	76.47	1.00E-098	285	96	NO aprobados
LbrM.31.2550	P84077	68.93	4.00E-092	268	97	NO aprobados
LbrM.13.0190	P87066	68.08	0	632	99	Griseofulvin
LbrM.13.0200	P87066	68.08	0	632	99	Griseofulvin
LbrM.29.2700	P87066	65.53	2.00E-094	286	80	Griseofulvin
LbrM.23.0300	Q01782	73.24	1.00E-150	426	99	NO aprobados
LbrM.28.0570	Q06609	72.31	6.00E-171	483	87	NO aprobados
LbrM.33.0950	Q13509	81.45	5.00E-137	394	99	Ixabepilone
LbrM.33.0920	Q13509	81.9	0	766	100	Ixabepilone
LbrM.33.0930	Q13509	81.9	0	767	100	Ixabepilone
LbrM.33.0960	Q13509	81.9	0	766	100	Ixabepilone
LbrM.33.1010	Q13509	80.68	2.00E-105	311	99	Ixabepilone
LbrM.33.0990	Q13509	79.89	7.00E-096	286	99	Ixabepilone
LbrM.21.2150	Q13509	82.35	0	767	100	Ixabepilone
LbrM.13.0190	Q13748	83.6	0	783	97	NO aprobados
LbrM.13.0200	Q13748	83.6	0	783	97	NO aprobados
LbrM.29.2700	Q13748	84.82	1.00E-120	353	74	NO aprobados
LbrM.33.0950	Q13885	85.1	5.00E-137	394	93	NO aprobados
LbrM.33.0920	Q13885	85.78	0	781	97	NO aprobados
LbrM.33.0930	Q13885	85.78	0	781	97	NO aprobados
LbrM.33.0960	Q13885	85.78	0	781	97	NO aprobados
LbrM.33.1010	Q13885	84.66	4.00E-104	308	92	NO aprobados
LbrM.33.0990	Q13885	84.48	4.00E-102	302	99	NO aprobados
LbrM.21.2150	Q13885	85.12	0	778	97	NO aprobados
LbrM.02.0290	Q26000	69	3.00E-045	146	85	NO aprobados
LbrM.23.1820	Q57VC7	65.52	8.00E-068	204	94	NO aprobados
LbrM.13.0190	Q6PEY2	82.46	0	768	97	NO aprobados
LbrM.13.0200	Q6PEY2	82.46	0	768	97	NO aprobados

LbrM.29.2700	Q6PEY2	83.25	3.00E-116	342	74	NO aprobados
LbrM.13.0190	Q71U36	83.37	0	783	97	Albendazole- Vinblastine- Mebendazole
LbrM.13.0200	Q71U36	83.37	0	783	97	Albendazole- Vinblastine- Mebendazole
LbrM.29.2700	Q71U36	84.82	2.00E-120	353	74	Albendazole- Vinblastine- Mebendazole
LbrM.05.0970	Q7K9G0	85.68	0	669	100	NO aprobados
LbrM.05.0950	Q7K9G0	92.19	6.00E-085	254	100	NO aprobados
LbrM.22.1170	Q7LG56	61.85	4.00E-145	418	83	Cladribine
LbrM.27.2230	Q7LG56	61.85	3.00E-145	418	84	Cladribine
LbrM.27.0850	Q92930	60.12	2.00E-075	227	87	NO aprobados
LbrM.04.0950	Q96L21	70.11	1.00E-091	269	86	NO aprobados
LbrM.04.0740	Q96L21	70.11	1.00E-091	269	86	NO aprobados
LbrM.13.0190	Q9BQE3	82.26	0	790	100	NO aprobados
LbrM.13.0200	Q9BQE3	82.26	0	790	100	NO aprobados
LbrM.29.2700	Q9BQE3	82.76	4.00E-124	362	78	NO aprobados
LbrM.33.0950	Q9BUF5	79.62	3.00E-129	374	95	NO aprobados
LbrM.33.0920	Q9BUF5	81.48	0	747	98	NO aprobados
LbrM.33.0930	Q9BUF5	81.48	0	747	98	NO aprobados
LbrM.33.0960	Q9BUF5	81.48	0	747	98	NO aprobados
LbrM.33.1010	Q9BUF5	78.31	4.00E-098	292	94	NO aprobados
LbrM.33.0990	Q9BUF5	79.89	4.00E-095	284	99	NO aprobados
LbrM.21.2150	Q9BUF5	81.94	0	748	98	NO aprobados
LbrM.33.0950	Q9BVA1	85.1	7.00E-137	393	93	NO aprobados
LbrM.33.0920	Q9BVA1	85.78	0	782	97	NO aprobados
LbrM.33.0930	Q9BVA1	85.78	0	783	97	NO aprobados
LbrM.33.0960	Q9BVA1	85.78	0	782	97	NO aprobados
LbrM.33.1010	Q9BVA1	84.66	4.00E-104	307	92	NO aprobados
LbrM.33.0990	Q9BVA1	83.91	2.00E-101	300	99	NO aprobados
LbrM.21.2150	Q9BVA1	85.58	0	782	97	NO aprobados
LbrM.31.2410	Q9GV41	60.81	3.00E-123	355	96	NO aprobados
LbrM.33.0950	Q9H4B7	72.95	4.00E-115	338	93	Vindesine- Paclitaxel- Docetaxel- Colchicine- Cabazitaxel
LbrM.33.0920	Q9H4B7	73.83	0	667	97	Vindesine- Paclitaxel- Docetaxel- Colchicine- Cabazitaxel
LbrM.33.0930	Q9H4B7	73.83	0	667	97	Vindesine- Paclitaxel- Docetaxel- Colchicine- Cabazitaxel
LbrM.33.0960	Q9H4B7	73.83	0	667	97	Vindesine- Paclitaxel- Docetaxel- Colchicine- Cabazitaxel
LbrM.33.1010	Q9H4B7	70.99	3.00E-085	259	92	Vindesine- Paclitaxel- Docetaxel- Colchicine- Cabazitaxel
LbrM.33.0990	Q9H4B7	71.26	6.00E-080	246	99	Vindesine- Paclitaxel- Docetaxel- Colchicine- Cabazitaxel

LbrM.21.2150	Q9H4B7	73.83	0	667	97	Vindesine- Paclitaxel- Docetaxel- Colchicine- Cabazitaxel
LbrM.13.0190	Q9NY65	78.36	0	742	97	Vindesine- Paclitaxel- Docetaxel- Colchicine- Cabazitaxel
LbrM.13.0200	Q9NY65	78.36	0	742	97	Vindesine- Paclitaxel- Docetaxel- Colchicine- Cabazitaxel
LbrM.29.2700	Q9NY65	82.72	2.00E-118	348	74	Vindesine- Paclitaxel- Docetaxel- Colchicine- Cabazitaxel
LbrM.27.1150	Q9Y697	66.75	0	566	100	L-Cysteine- L-Alanine

### Anexo I-e. *Leishmania infantum*

Proteína del Parásito	Blanco	% Identidad	Valor e	Puntaje	% Cubrimiento	Medicamentos
LinJ.08.1290	F1L7U3	80.82	0	759	99	Albendazole
LinJ.08.1280	F1L7U3	81.05	0	760	99	Albendazole
LinJ.33.0860	F1L7U3	80.82	0	759	99	Albendazole
LinJ.21.2240	F1L7U3	81.05	0	760	99	Albendazole
LinJ.36.2480	O14556	62.24	2.00E-145	419	100	NADH
LinJ.27.0590	O75251	60.14	1.00E-067	207	74	Doxorubicin
LinJ.10.0310	O75874	64.99	0	548	91	NO aprobados
LinJ.08.1290	P04350	85.25	0	774	96	NO aprobados
LinJ.08.1280	P04350	85.95	0	779	96	NO aprobados
LinJ.33.0860	P04350	85.25	0	775	96	NO aprobados
LinJ.21.2240	P04350	85.95	0	779	96	NO aprobados
LinJ.36.2480	P04406	65.36	5.00E-156	442	100	NO aprobados
LinJ.28.0260	P05166	67.88	9.00E-077	239	100	biotin
LinJ.25.1210	P06576	64.4	0	642	95	NO aprobados
LinJ.25.2590	P06576	69.93	6.00E-139	405	94	NO aprobados
LinJ.08.1290	P07437	85.55	0	782	97	Vinorelbine-vinblastine-colchicine-podofilox-vincristine
LinJ.08.1280	P07437	86.25	0	786	97	Vinorelbine-vinblastine-colchicine-podofilox-vincristine
LinJ.33.0860	P07437	85.55	0	782	97	Vinorelbine-vinblastine-colchicine-podofilox-vincristine
LinJ.21.2240	P07437	85.78	0	783	97	Vinorelbine-vinblastine-colchicine-podofilox-vincristine
LinJ.33.0350	P07900	62.02	0	849	100	Rifabutim-nedocromil
LinJ.33.0360	P07900	62.57	0	875	100	Rifabutim-nedocromil
LinJ.33.0370	P07900	62.57	0	875	100	Rifabutim-nedocromil
LinJ.33.0350	P08238	62	0	834	100	NO aprobados
LinJ.33.0360	P08238	62.59	0	860	100	NO aprobados
LinJ.33.0370	P08238	62.59	0	860	100	NO aprobados
LinJ.14.1240	P09104	60.89	0	518	100	NO aprobados

LinJ.36.2480	P0A9B2	81.4	0	555	99	NO aprobados
LinJ.36.3690	P0CG48	97.22	0	1320	100	NO aprobados
LinJ.36.3690	P0CG48	97.04	0	1174	89	NO aprobados
LinJ.09.0950	P0CG48	97.37	0	1326	79	NO aprobados
LinJ.09.0950	P0CG48	97.23	0	1324	79	NO aprobados
LinJ.09.0950	P0CG48	97.25	0	1268	76	NO aprobados
LinJ.08.1290	P10875	71.59	0	672	99	Griseofulvin
LinJ.08.1280	P10875	72.05	0	675	99	Griseofulvin
LinJ.33.0860	P10875	71.59	0	672	99	Griseofulvin
LinJ.21.2240	P10875	72.27	0	677	99	Griseofulvin
LinJ.28.2950	P11021	67.85	0	727	86	acetylsalicylic acid
LinJ.28.2960	P11021	63.81	0	805	96	acetylsalicylic acid
LinJ.28.3060	P11021	63.81	0	803	86	acetylsalicylic acid
LinJ.28.3000	P11021	63.81	0	805	96	acetylsalicylic acid
LinJ.28.1310	P11021	64.33	0	818	95	acetylsalicylic acid
LinJ.28.2950	P11142	76.97	0	849	86	No aprobados
LinJ.28.2960	P11142	73.81	0	940	93	No aprobados
LinJ.28.3060	P11142	73.81	0	939	83	No aprobados
LinJ.28.3000	P11142	73.81	0	940	93	No aprobados
LinJ.28.1310	P11142	63.11	0	786	93	No aprobados
LinJ.26.1220	P11142	64.6	0	828	96	No aprobados
LinJ.36.0200	P13639	61.53	0	1062	100	NO aprobados
LinJ.36.0210	P13639	61.53	0	1062	100	NO aprobados
LinJ.36.0190	P13639	61.53	0	1062	100	NO aprobados
LinJ.14.1240	P13929	60.42	0	515	100	NO aprobados
LinJ.32.3100	P15531	64.67	3.00E-071	213	99	Tenofovir- Lamivudina- adefovir
LinJ.32.3110	P15531	64.67	3.00E-071	213	99	Tenofovir- Lamivudina- adefovir
LinJ.31.2890	P18085	70.76	2.00E-091	266	96	NO aprobados
LinJ.31.2350	P18085	66.29	2.00E-087	256	98	NO aprobados
LinJ.28.2610	P21281	72.69	0	720	96	gallium nitrate
LinJ.27.0310	P22033	62.41	0	903	98	Hydroxocobalamin- cyanocobalamin
LinJ.32.3100	P22392	65.54	2.00E-072	216	98	Tenofovir- Lamivudina- adefovir
LinJ.32.3110	P22392	65.54	2.00E-072	216	98	Tenofovir- Lamivudina- adefovir
LinJ.30.3000	P22513	83.99	0	639	99	NO aprobados
LinJ.30.2990	P22513	83.99	0	639	99	NO aprobados
LinJ.25.0990	P23258	65.4	0	617	100	Vinblastine
LinJ.36.4100	P23526	71.43	0	622	99	Proline
LinJ.35.0370	P26196	65.84	0	588	99	NO aprobados
LinJ.05.0350	P28593	67.42	0	691	99	FAD
LinJ.25.0940	P30405	69.7	6.00E-081	240	93	cyclosporine
LinJ.30.3580	P31153	62.53	3.00E-163	466	99	SAM

LinJ.30.3560	P31153	62.53	3.00E-163	466	99	SAM
LinJ.27.1970	P31350	60.22	3.00E-155	445	92	Cladribine
LinJ.34.0850	P36873	61.77	1.00E-138	397	97	NO aprobados
LinJ.31.2700	P36873	67.9	7.00E-147	420	74	NO aprobados
LinJ.28.0730	P36873	75.34	6.00E-179	499	98	NO aprobados
LinJ.34.0820	P36873	63.97	9.00E-132	378	96	NO aprobados
LinJ.34.0840	P36873	60.75	2.00E-135	388	98	NO aprobados
LinJ.34.0830	P36873	62.2	3.00E-138	395	96	NO aprobados
LinJ.34.3460	P38606	65.79	0	815	99	Alendronate- tiludronate- etidronic acid
LinJ.06.0120	P45877	60.64	3.00E-070	213	100	Proline
LinJ.10.0310	P48735	67.15	0	594	94	NO aprobados
LinJ.05.0980	P49821	71.09	0	639	88	NO aprobados
LinJ.24.0870	P52270	68.92	2.00E-133	379	100	NO aprobados
LinJ.25.2230	P53597	66.78	3.00E-118	345	100	Succinic acid
LinJ.25.2220	P53597	66.78	3.00E-118	345	100	Succinic acid
LinJ.34.0850	P62136	61.59	3.00E-139	398	100	No aprobados
LinJ.31.2700	P62136	68.27	1.00E-146	420	74	NO aprobados
LinJ.28.0730	P62136	73.42	2.00E-176	493	100	NO aprobados
LinJ.34.0820	P62136	61.92	1.00E-132	381	99	NO aprobados
LinJ.34.0840	P62136	60.8	3.00E-136	391	100	NO aprobados
LinJ.34.0830	P62136	61.59	6.00E-137	393	95	NO aprobados
LinJ.09.0970	P62158	89.93	3.00E-097	278	100	Chlorpromazine-cinchocaine-nicardipine-Fluphenazine-trifluoperazine-loperamide-perphenazine-phenoxybenzamine-felodipine
LinJ.09.0980	P62158	89.93	3.00E-097	278	100	Chlorpromazine-cinchocaine-nicardipine-Fluphenazine-trifluoperazine-loperamide-perphenazine-phenoxybenzamine-felodipine
LinJ.31.2890	P62330	64.94	4.00E-084	247	98	NO aprobados
LinJ.25.1360	P62714	72.43	8.00E-172	481	95	Vitamine E
LinJ.25.1460	P62826	70.87	1.00E-107	310	95	NO aprobados
LinJ.35.3840	P62829	75.97	5.00E-069	206	93	NO aprobados
LinJ.35.1310	P62837	73.65	8.00E-082	239	100	NO aprobados
LinJ.04.0460	P62913	72.19	1.00E-090	265	90	NO aprobados
LinJ.22.0004	P62913	72.19	1.00E-090	265	90	NO aprobados
LinJ.32.4050	P62917	61.66	1.00E-107	313	97	No aprobados
LinJ.35.1440	P62917	61.66	1.00E-107	313	97	No aprobados
LinJ.35.1450	P62917	61.66	1.00E-107	313	97	No aprobados
LinJ.25.0940	P62937	69.7	3.00E-080	237	93	cyclosporine

LinJ.25.1360	P67775	72.76	8.00E-172	481	95	Vitamin E
LinJ.17.0180	P68104	69.2	0	637	100	NO aprobados
LinJ.17.0190	P68104	75.65	0	729	100	NO aprobados
LinJ.17.0090	P68104	75.65	0	729	100	NO aprobados
LinJ.17.0100	P68104	75.65	0	729	100	NO aprobados
LinJ.17.0200	P68104	75.65	0	729	100	NO aprobados
LinJ.17.0110	P68104	75.32	0	728	92	NO aprobados
LinJ.17.0170	P68104	75.65	0	729	100	NO aprobados
LinJ.04.1250	P68133	70.4	0	590	100	NO aprobados
LinJ.13.1460	P68363	82.92	0	781	90	NO aprobados
LinJ.13.0330	P68363	82.92	0	779	97	NO aprobados
LinJ.13.1460	P68366	80.22	0	766	91	Vincristine- podofilox-cabazitaxel
LinJ.13.0330	P68366	80.22	0	764	99	Vincristine- podofilox-cabazitaxel
LinJ.08.1290	P68371	86.42	0	783	96	Albendazole-mebendazole
LinJ.08.1280	P68371	87.12	0	787	96	Albendazole-mebendazole
LinJ.33.0860	P68371	86.42	0	783	96	Albendazole-mebendazole
LinJ.21.2240	P68371	87.12	0	788	96	Albendazole-mebendazole
LinJ.31.2890	P84077	75.29	3.00E-097	281	96	NO aprobados
LinJ.31.2350	P84077	69.49	1.00E-091	266	97	NO aprobados
LinJ.13.1460	P87066	67.86	0	631	91	Griseofulvin
LinJ.13.0330	P87066	67.86	0	630	99	Griseofulvin
LinJ.23.0310	Q01782	90.62	0	538	100	NO aprobados
LinJ.28.0580	Q06609	72	3.00E-171	483	86	NO aprobados
LinJ.08.1290	Q13509	82.31	0	768	100	Ixabepilone
LinJ.08.1280	Q13509	82.58	0	769	100	Ixabepilone
LinJ.33.0860	Q13509	82.35	0	768	100	Ixabepilone
LinJ.21.2240	Q13509	82.31	0	768	100	Ixabepilone
LinJ.13.1460	Q13748	83.6	0	784	90	NO aprobados
LinJ.13.0330	Q13748	83.6	0	783	97	NO aprobados
LinJ.08.1290	Q13885	85.58	0	781	97	NO aprobados
LinJ.08.1280	Q13885	85.35	0	780	97	NO aprobados
LinJ.33.0860	Q13885	85.78	0	782	97	NO aprobados
LinJ.21.2240	Q13885	85.35	0	780	97	NO aprobados
LinJ.23.1980	Q57VC7	69.18	5.00E-071	212	94	NO aprobados
LinJ.13.1460	Q6PEY2	82.46	0	769	90	NO aprobados
LinJ.13.0330	Q6PEY2	82.46	0	768	97	NO aprobados
LinJ.13.1460	Q71U36	83.37	0	784	90	Albendazole- Vinblastine- Mebendazole
LinJ.13.0330	Q71U36	83.37	0	782	97	Albendazole- Vinblastine- Mebendazole
LinJ.05.0970	Q7K9G0	95.95	0	741	100	NO aprobados
LinJ.04.0750	Q96L21	63.21	5.00E-092	270	100	NO aprobados

LinJ.04.0950	Q96L21	63.21	5.00E-092	270	100	NO aprobados
LinJ.13.1460	Q9BQE3	82.26	0	791	92	NO aprobados
LinJ.13.0330	Q9BQE3	82.26	0	789	100	NO aprobados
LinJ.08.1290	Q9BUF5	81.94	0	748	98	NO aprobados
LinJ.08.1280	Q9BUF5	82.18	0	749	98	NO aprobados
LinJ.33.0860	Q9BUF5	81.94	0	748	98	NO aprobados
LinJ.21.2240	Q9BUF5	81.94	0	749	98	NO aprobados
LinJ.08.1290	Q9BVA1	85.78	0	783	97	NO aprobados
LinJ.08.1280	Q9BVA1	85.81	0	785	97	NO aprobados
LinJ.33.0860	Q9BVA1	85.78	0	783	97	NO aprobados
LinJ.21.2240	Q9BVA1	85.81	0	784	97	NO aprobados
LinJ.31.2210	Q9GV41	61.03	2.00E-123	355	96	NO aprobados
LinJ.08.1290	Q9H4B7	73.83	0	668	97	Vindesine- Paclitaxel- Docetaxel- Colchicine- Cabazitaxel
LinJ.08.1280	Q9H4B7	73.6	0	667	97	Vindesine- Paclitaxel- Docetaxel- Colchicine- Cabazitaxel
LinJ.33.0860	Q9H4B7	73.83	0	667	97	Vindesine- Paclitaxel- Docetaxel- Colchicine- Cabazitaxel
LinJ.21.2240	Q9H4B7	73.6	0	667	97	Vindesine- Paclitaxel- Docetaxel- Colchicine- Cabazitaxel
LinJ.13.1460	Q9NY65	78.36	0	742	90	NO aprobados
LinJ.13.0330	Q9NY65	78.36	0	741	97	NO aprobados
LinJ.27.0930	Q9Y697	65.47	0	581	95	L-Cysteine L-Alanine

## Anexo II. Simulaciones farmacocinéticas.

### Anfotericina B

Población: Pacientes con trasplante de médula ósea

Modelo: 2 compartimientos

Dosis: Infusión 350 mg/3 h

Ka ( $h^{-1}$ ): 0 (IV)

Cl (L/h): 9.38

Vd (L): 6.258

Q2 (L/h):66.01

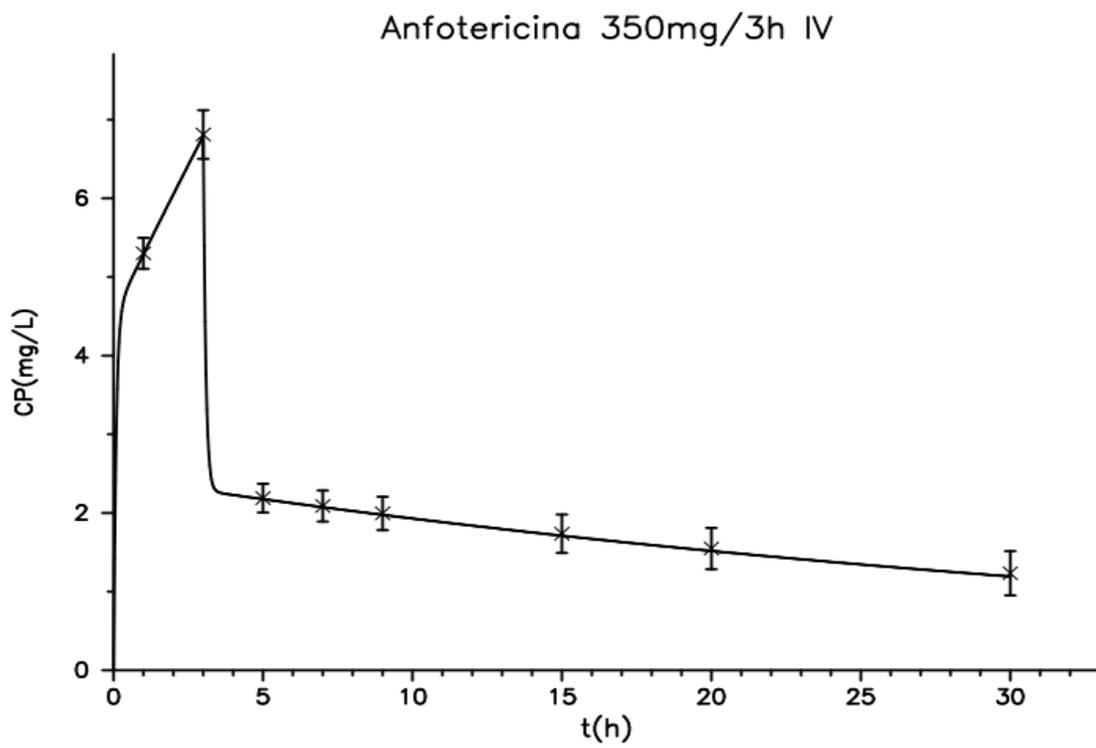
V2 (L):336.7

Variabilidad intersujeto:

Vd: 32.9%

Cl: 26.5%

CE<sub>50</sub>=0.02 mg/L



## Miltefosina

Población: Pacientes con leishmaniasis

Modelo: 2 compartimientos

Dosis: 150mg c/24h x 28 días

Ka ( $h^{-1}$ ): 0.36

Cl (L/h): 3.87

Vd (L): 39.6

Q2 (L/h): 0.0375

V2 (L): 1.65

Variabilidad interindividual

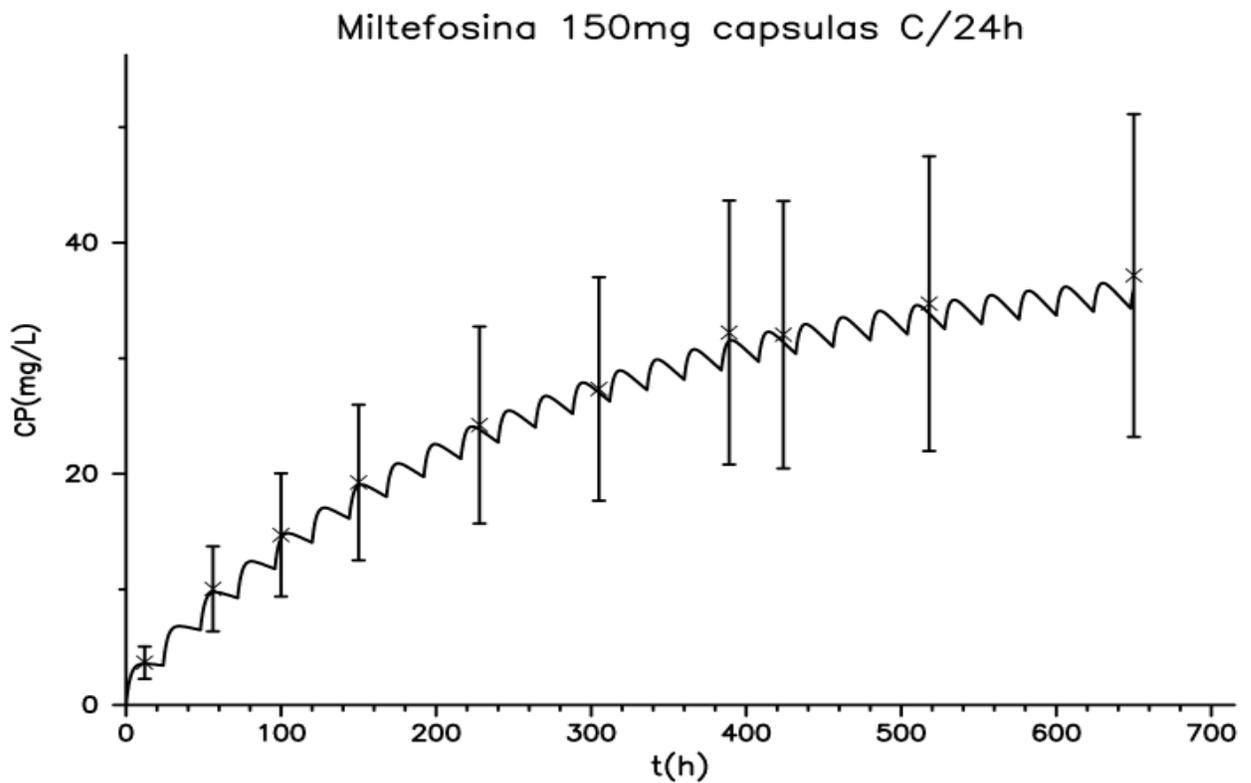
Ka 24.2 %

Cl 23.2 %

Vd 18.3 %

Variabilidad residual 31.5%

CE<sub>50</sub>=2.3 mg/L



## Perfenazina

Población: Pacientes con esquizofrenia

Modelo: 1 compartimiento

Dosis: 10 mg cada 8 horas y 30 mg cada 12 horas

Ka ( $h^{-1}$ ): 1.6

Cl (L/h): 346

Vd (L): 19300

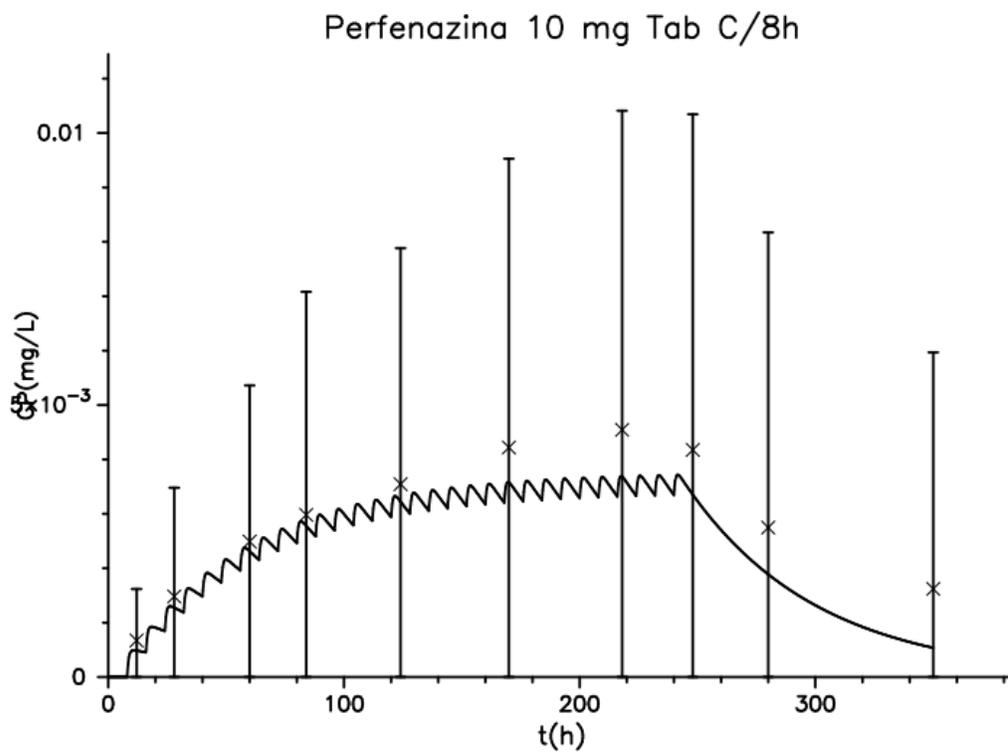
Variabilidad intersujeto:

Cl: 79.3%

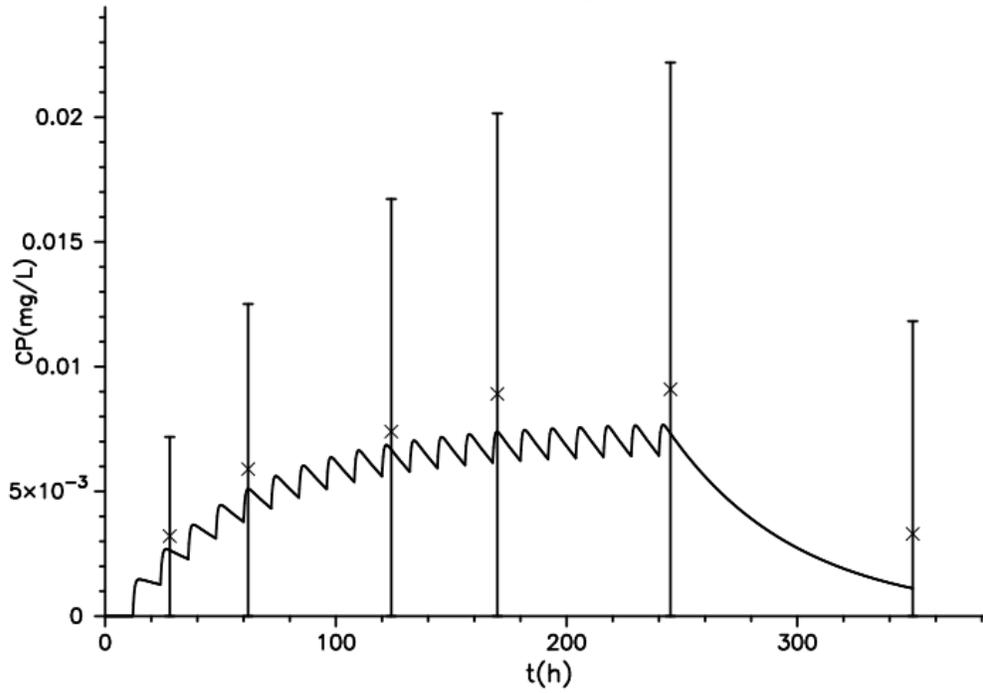
Vd: 78.5

Variabilidad residual: 37.4%

CE<sub>50</sub>=NR



### Perfenazina 30mg Tab C/12h



### Lamivudina

Población: Pacientes con VIH

Modelo: 1 compartimiento

Dosis: 150-300 mg al día

Ka (h<sup>-1</sup>): 4.65

Cl (L/h): 25.1

Vd (L): 128

Variabilidad intersujeto:

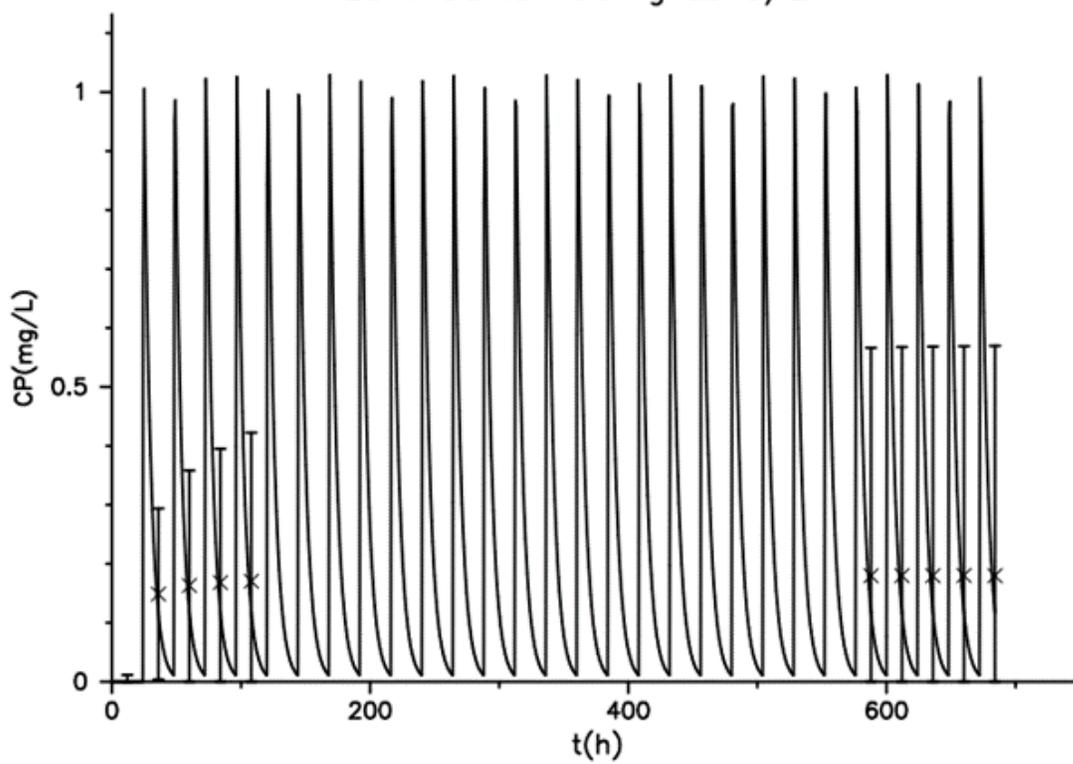
Cl: 35.2%

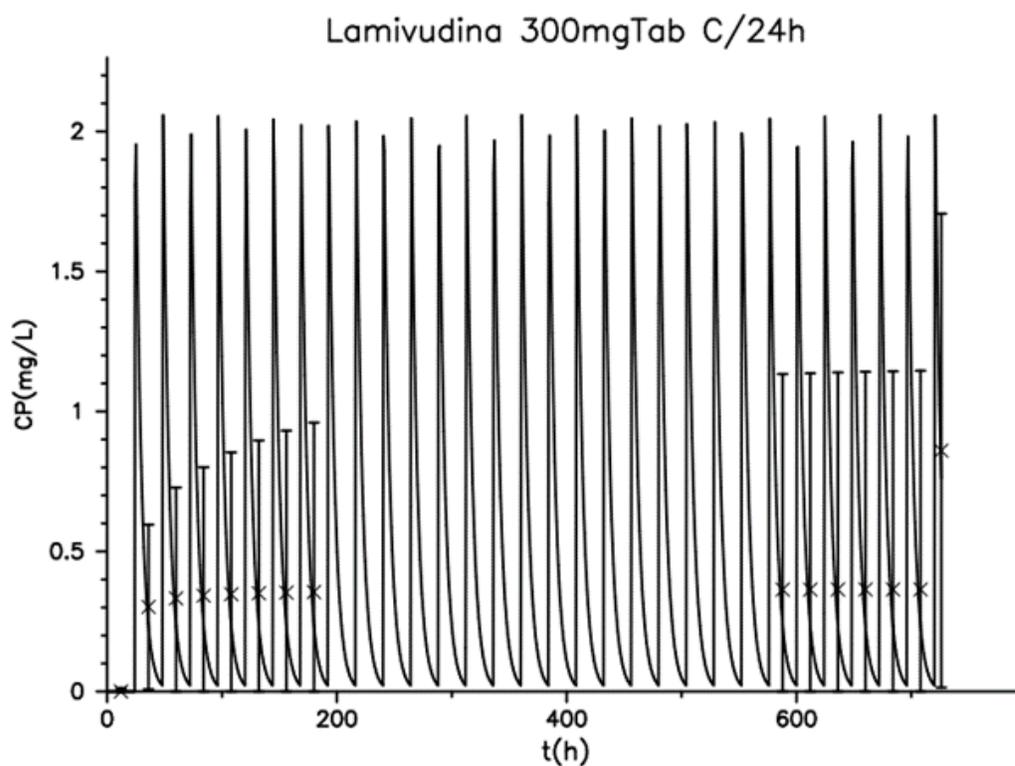
Vd: 31.1 %

Variabilidad aditiva 0.012

CE<sub>50</sub>=NR

Lamivudina 150mgTab C/24h





### Cladribina

Población: Pacientes con leucemia

Modelo: 3 compartimientos

Dosis: 10 mg / 2 horas infusión

$K_a$  ( $h^{-1}$ ): 0 (IV)

Cl (L/h): 39.3

$V_d$  (L): 71.7

$Q_2$  (L/h): 51.1

$Q_3$  (L/h): 105

$V_2$  (L): 475

$V_3$  (L): 73.6

Variabilidad intersujeto:

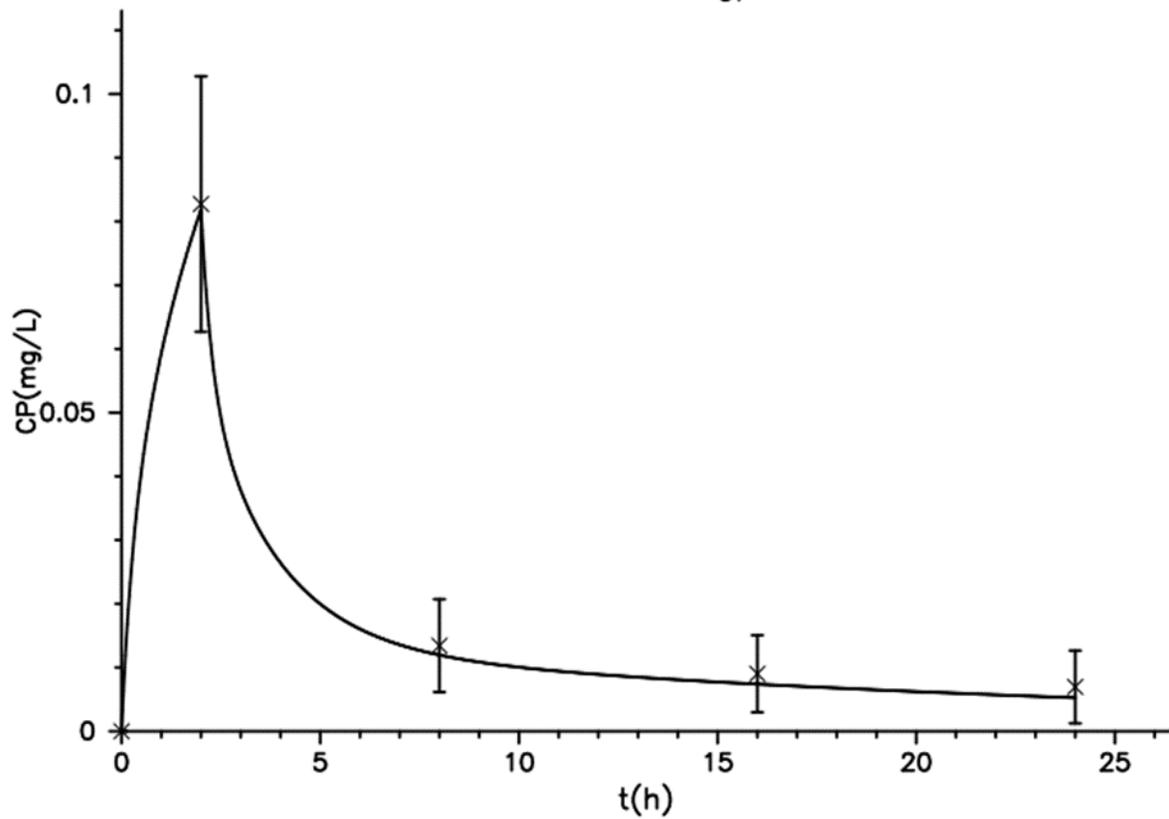
$V_d$ : 34%

Cl: 54%

Variabilidad residual: 0.191

$CE_{50}$ : NR

### Cladribina 10mg/2h IV



### Rifabutin

Población: Pacientes con VIH

Modelo: 2 compartimentos

Dosis: 150 mg cada 8 horas y 300 mg cada 8 horas

$K_a$  ( $h^{-1}$ ): 0.201

Cl (L/h): 60.9

$V_d$  (L): 231

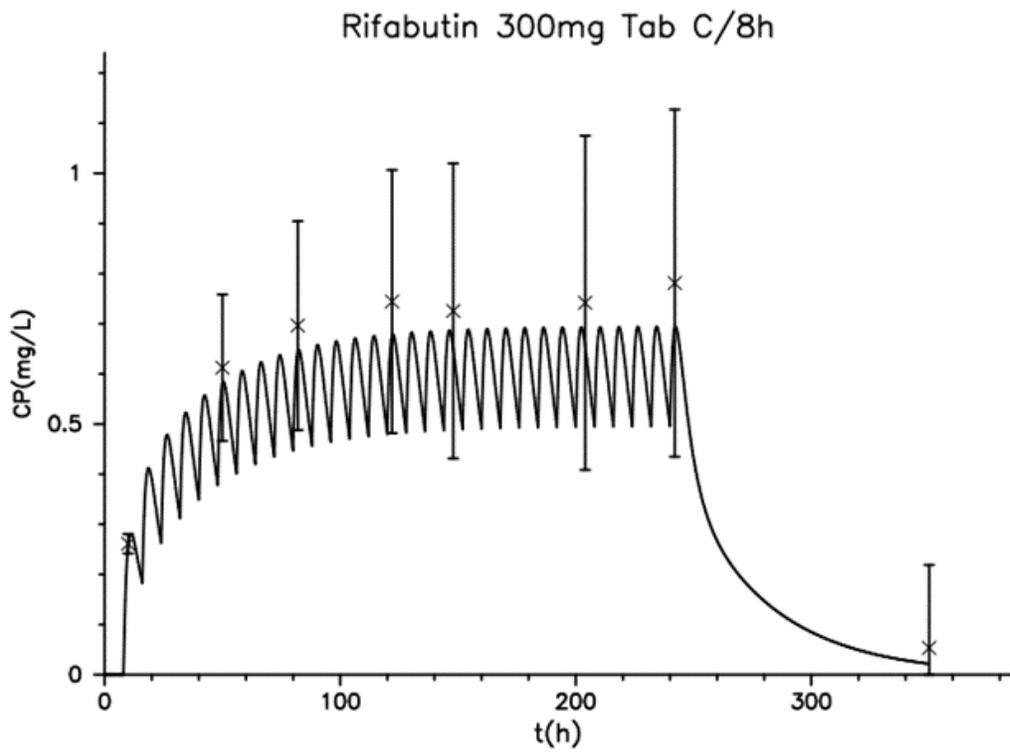
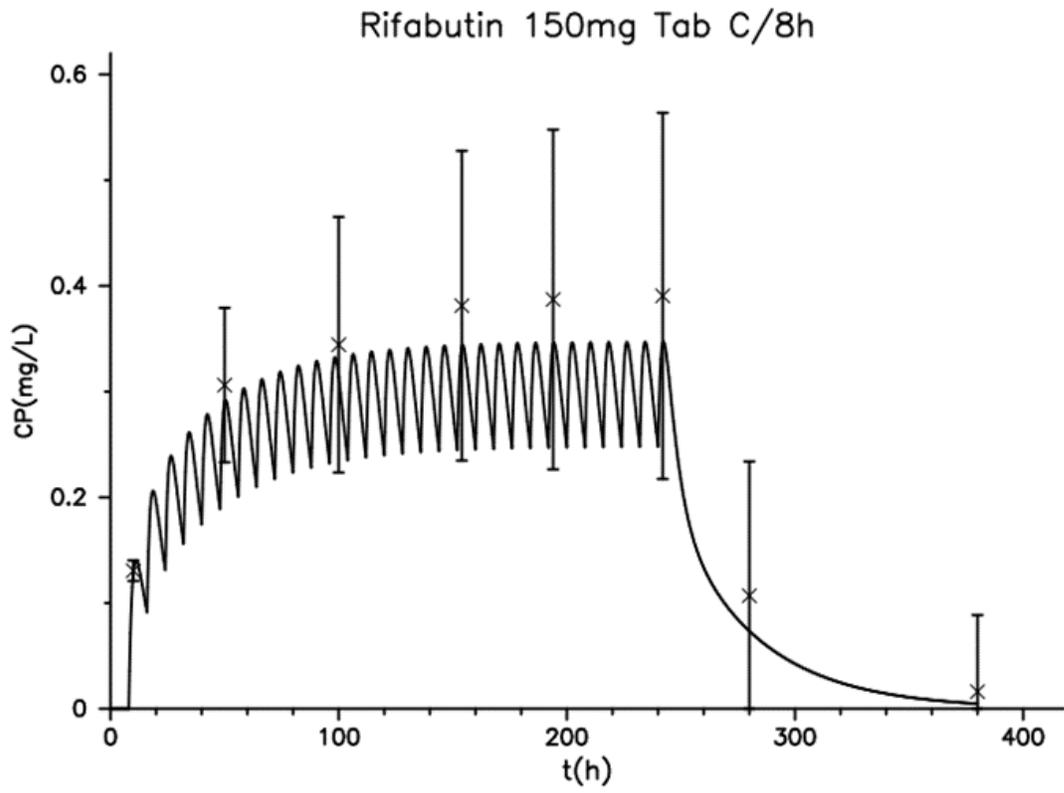
$Q_2$  (L/h): 60.3

$V_2$  (L): 1050

Variabilidad interindividual

Cl 32%

$CE_{50}$ = NR



## Metformina

Población: Voluntarios sanos

Modelo: 2 compartimientos

Dosis: 300 mg cada 24 horas y 2000 mg cada 12 horas

Ka ( $h^{-1}$ ): 0.35

Cl (L/h): 72

Vd (L): 149

Q2 (L/h): 12

V2 (L): 182

Variabilidad interindividual

Cl 34.4 %

Vd 54.1%

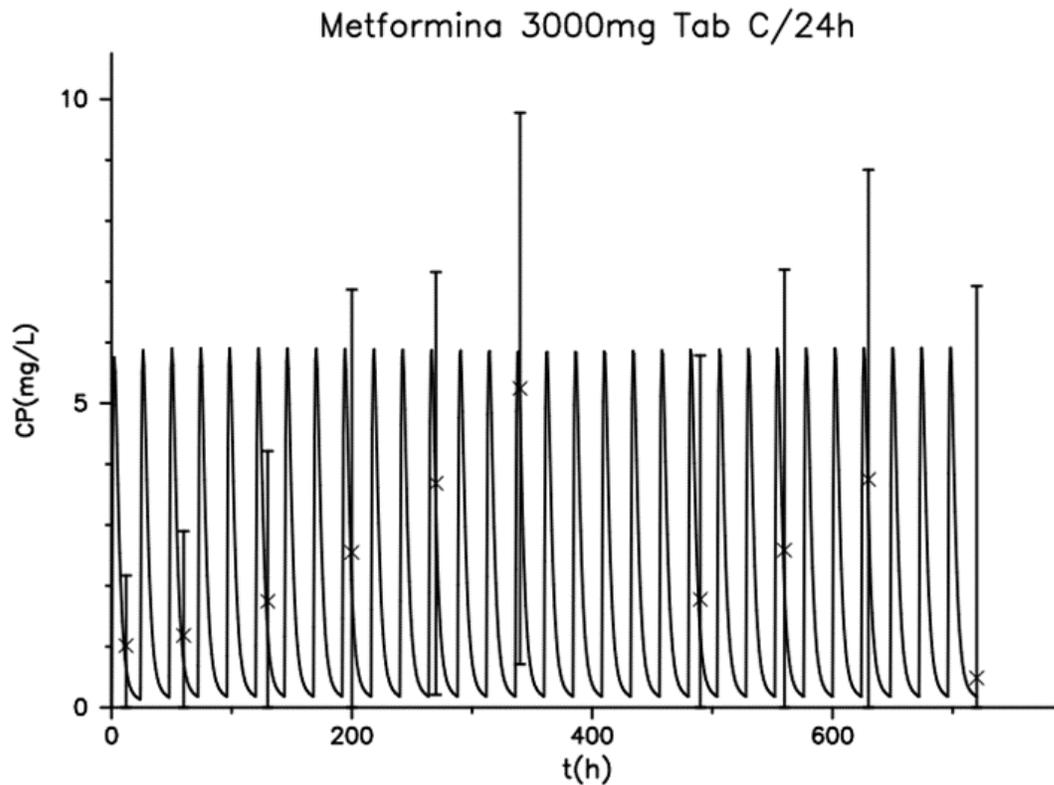
V2 75.4 %

Q2 66 %

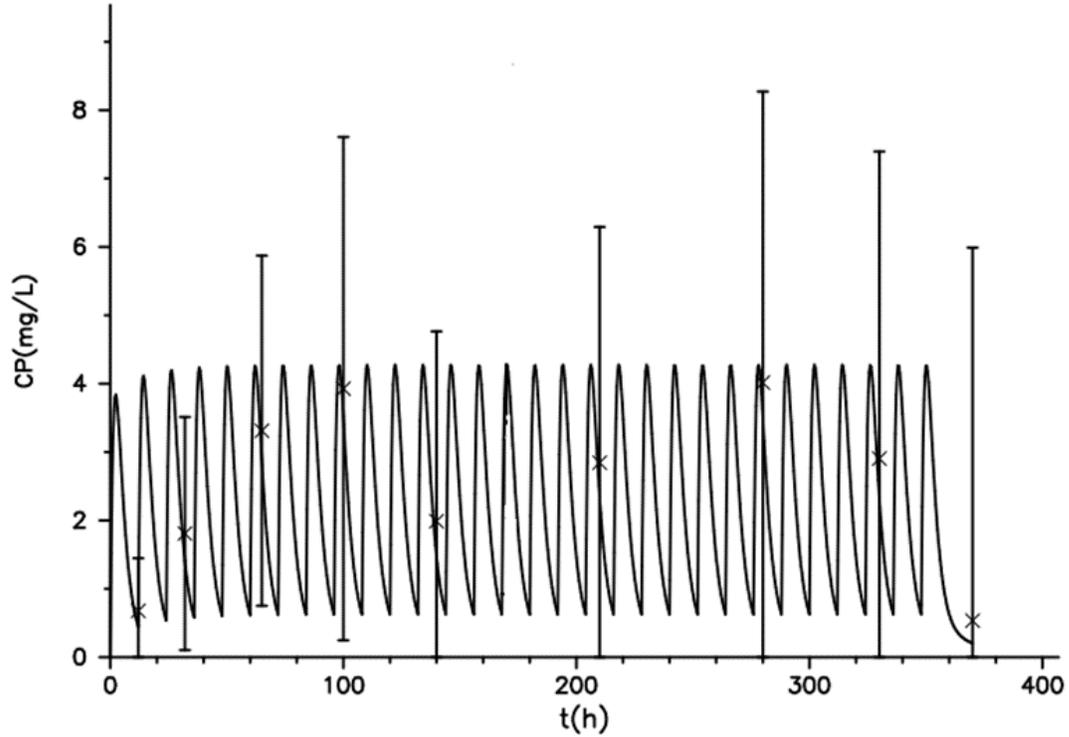
Variabilidad aditiva: 0.018

Variabilidad proporcional: 0.271

CE<sub>50</sub>= NR



### Metformina 2000mg Tab C/12h



### Tenofovir

Población Pacientes VIH

Modelo: 2 compartimientos

Dosis: 300mg/ cada 24 horas y 300mg cada 12 horas

$K_a$  ( $h^{-1}$ ): 1.05

Cl (L/h): 42.0

$V_d$  (L): 277

$Q_2$  (L/h): 182

$V_2$  (L): 436

Variabilidad interindividual

Cl 33.5 %

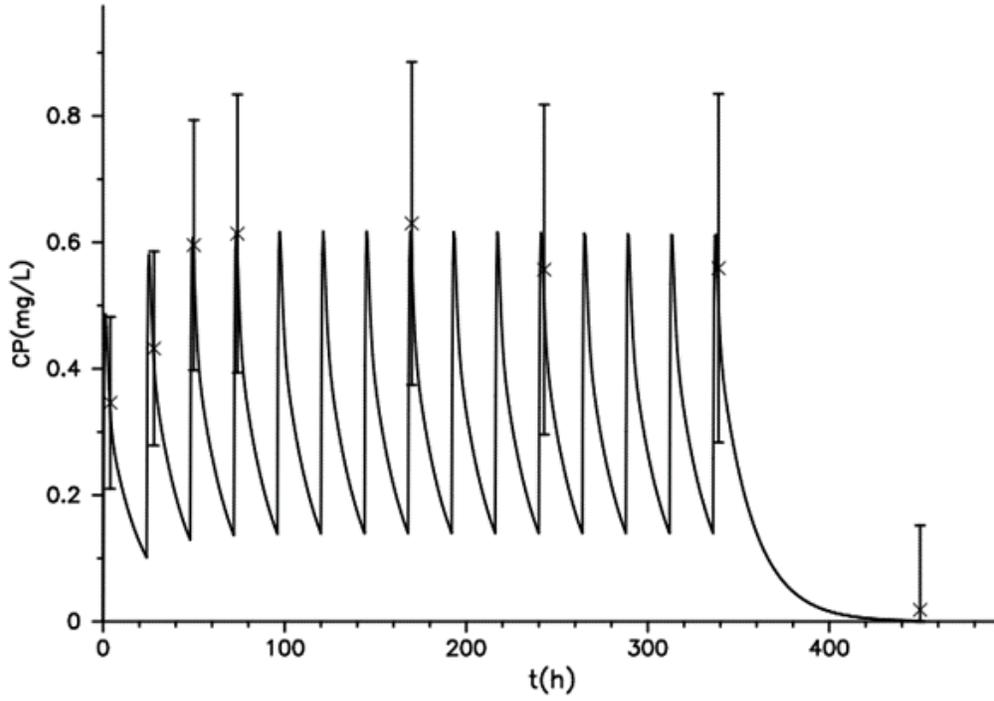
$V_d$  64.8%

$V_2$  46.5 %

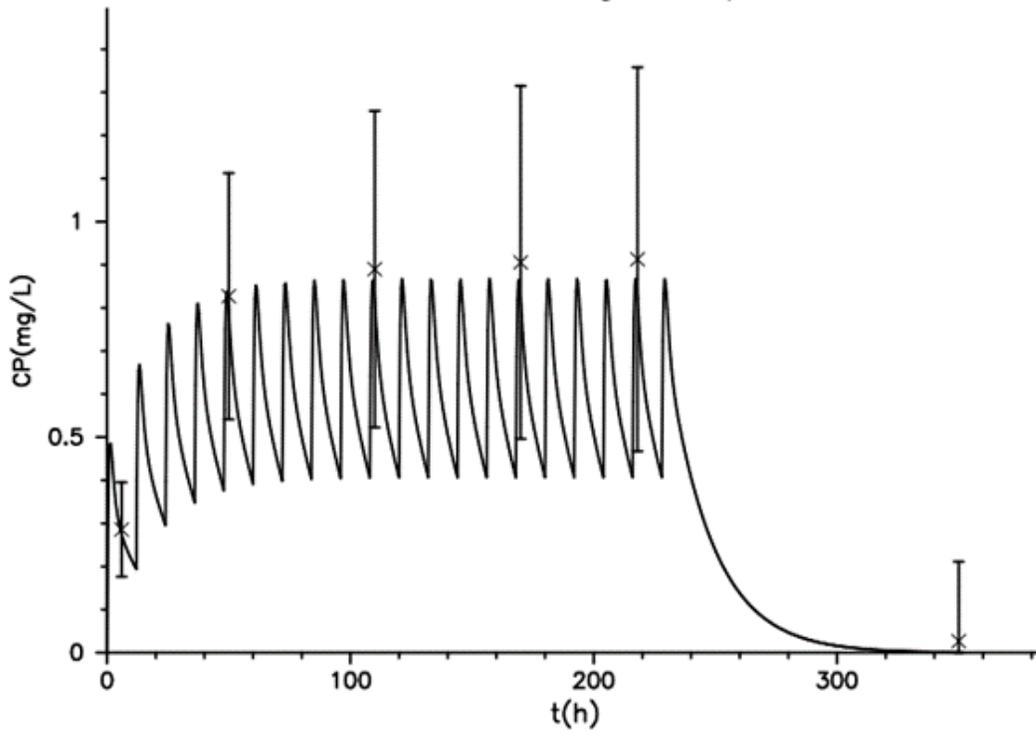
Variabilidad residual 18.3 %

$CE_{50}$ = NR

Tenofovir 300 mg Tab C/24h



Tenofovir 300mg Tab C/12h



## Ciclosporina

Población: Paciente trasplante renal

Modelo: 1 compartimiento

Dosis: 100 mg cada 12 horas y 500 mg cada 12 horas con dosis de carga intravenosa de 350mg/4h

$K_a$  ( $h^{-1}$ ): 1.28

Cl (L/h): 28.5

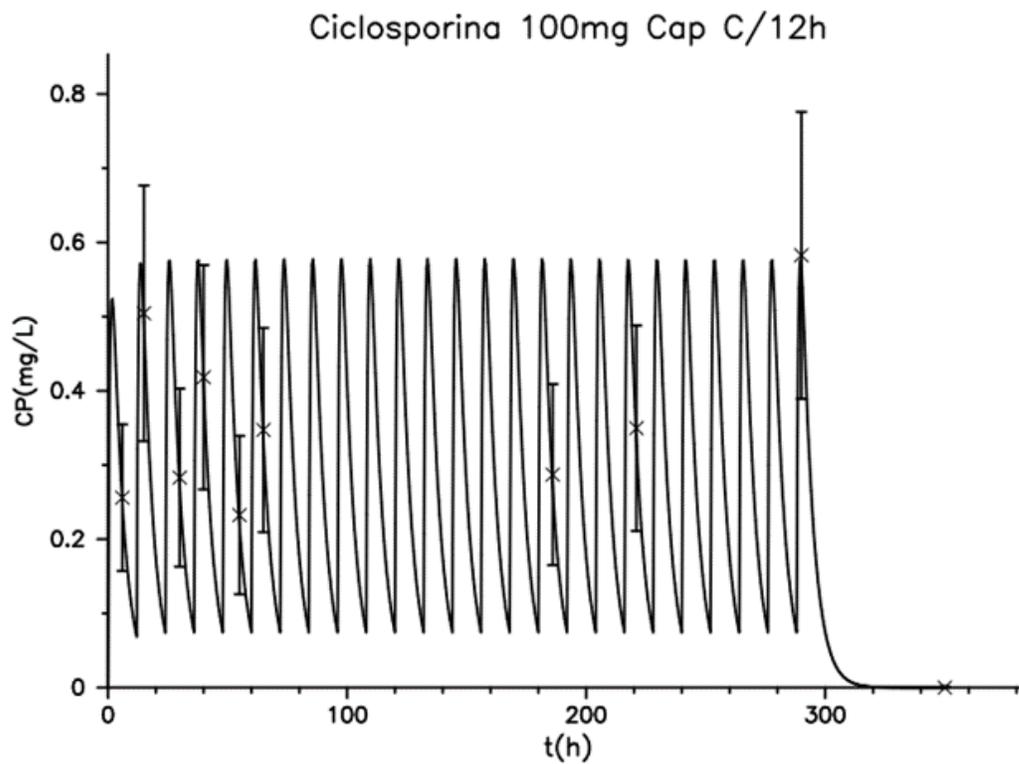
Vd (L): 133

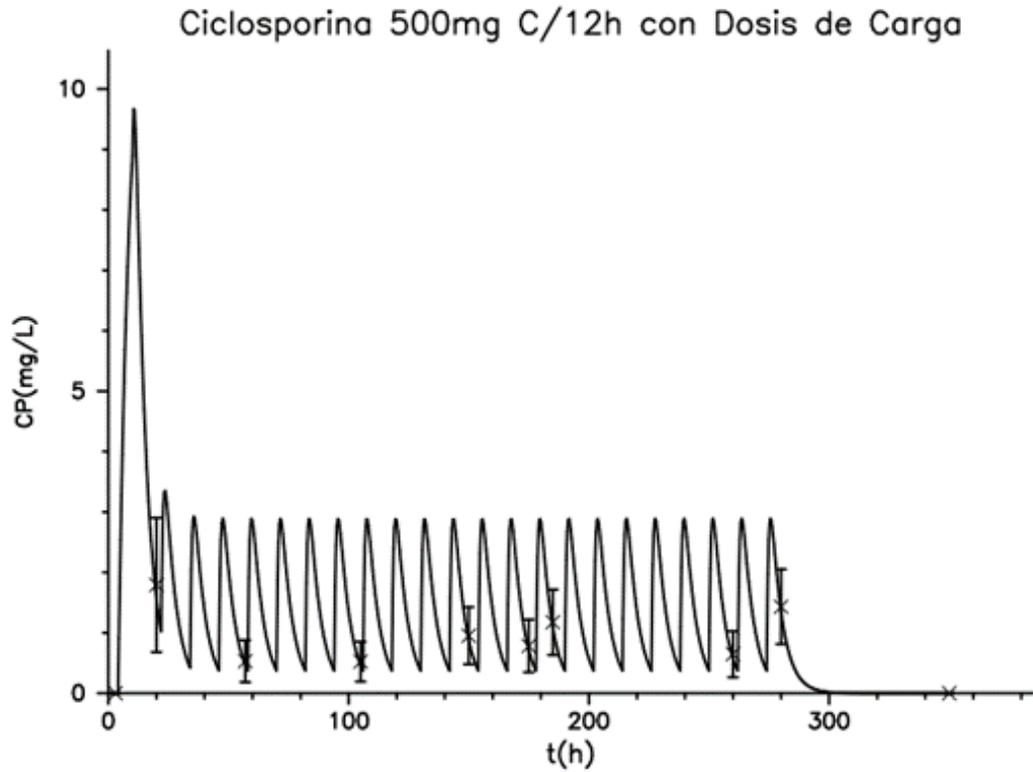
Variabilidad intersujeto:

Cl: 19.7%

Variabilidad residual: 30.8%

$CE_{50}$ =10mg/L





### Albendazol

Población: Pacientes con neurocisticercosis

Modelo: 1 compartimiento

Dosis: indicada en cada simulación

Ka ( $h^{-1}$ ): 0.416

Cl (L/h): 51.6

Vd (L): 4560

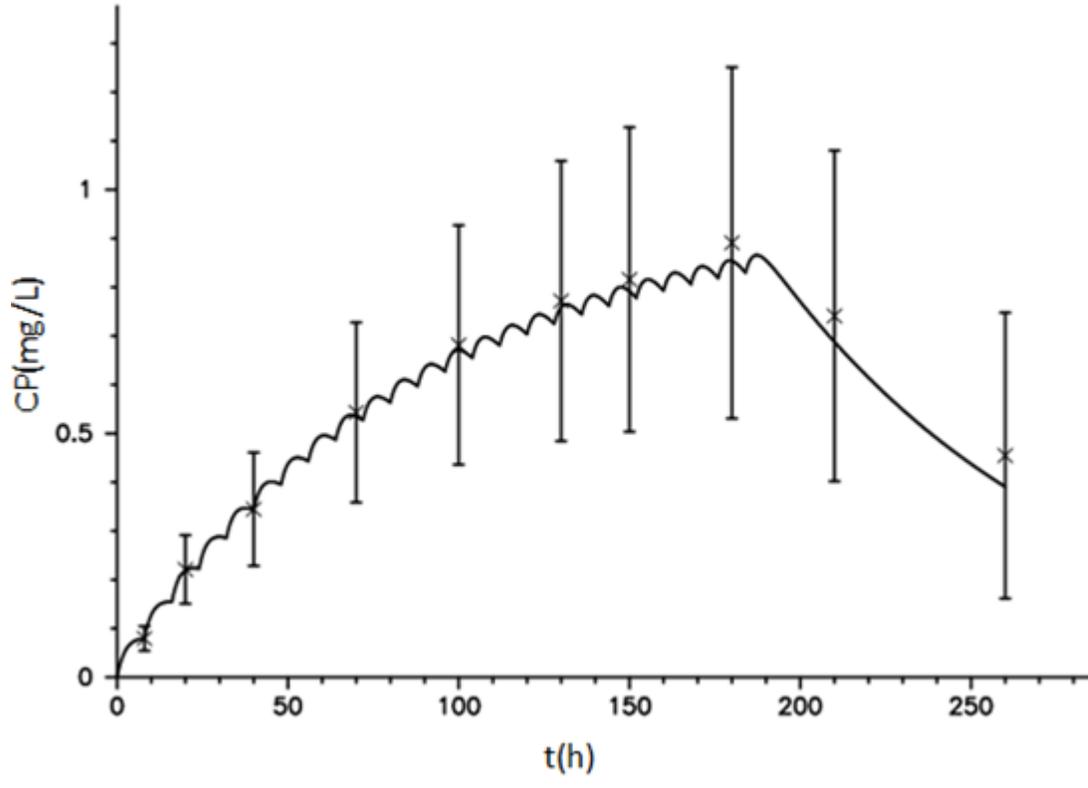
Variabilidad intersujeto:

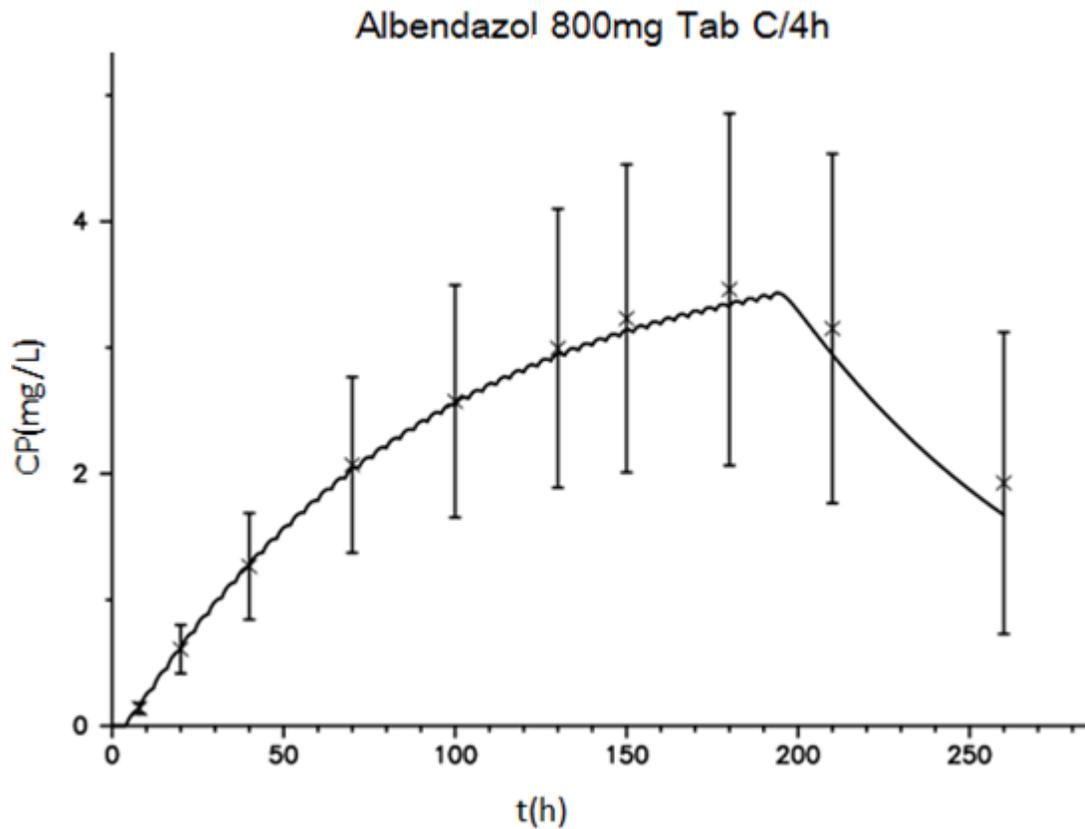
Cl: 32.4%

Variabilidad residual: 31.9%

CE<sub>50</sub>: >100 mg/L

Albendazol 400mg Tab C/8h

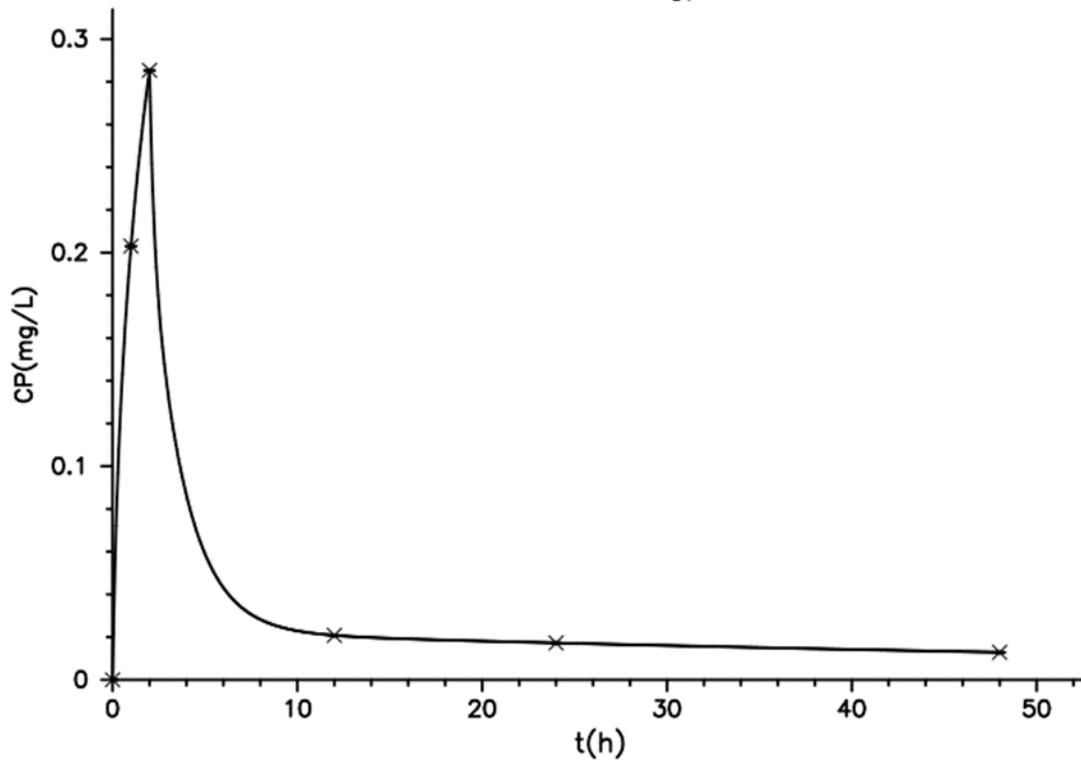




### Colchicina

Población: Voluntarios sanos  
 Dosis: 10 mg / 2 horas infusión  
 $K_a$  ( $h^{-1}$ ): 0 (intravenoso)  
 $Cl$  (L/h): 7.7  
 $V_d$  (L): 20.6  
 $Q_2$  (L/h): 38.1  
 $Q_3$  (L/h): 17.6  
 $V_2$  (L): 20.2  
 $V_3$  (L): 420  
 $CE_{50}$  >100 mg/L

### Colchicina 10mg/2h IV



### Vinorelbina

Población: Pacientes con cáncer de mama

Modelo: 3 compartimientos

Dosis: Infusión 32 mg/30 min y 50 mg/30 min

$K_a$  ( $h^{-1}$ ): 0 (IV)

Cl (L/h): 74.2

$V_d$  (L): 7.85

$Q_2$  (L/h): 32.7

$Q_3$  (L/h): 47.0

$V_2$  (L): 19.4

$V_3$  (L): 388

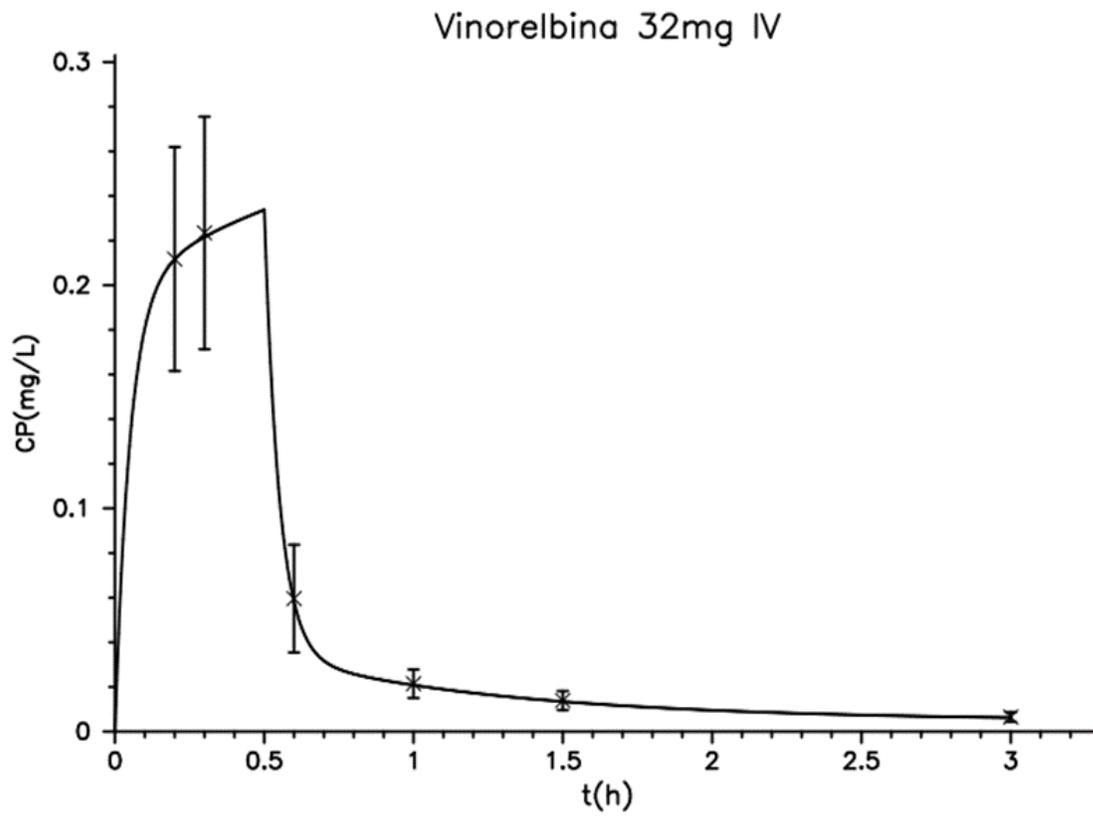
Variabilidad intersujeto:

$V_d$ : 32.0%

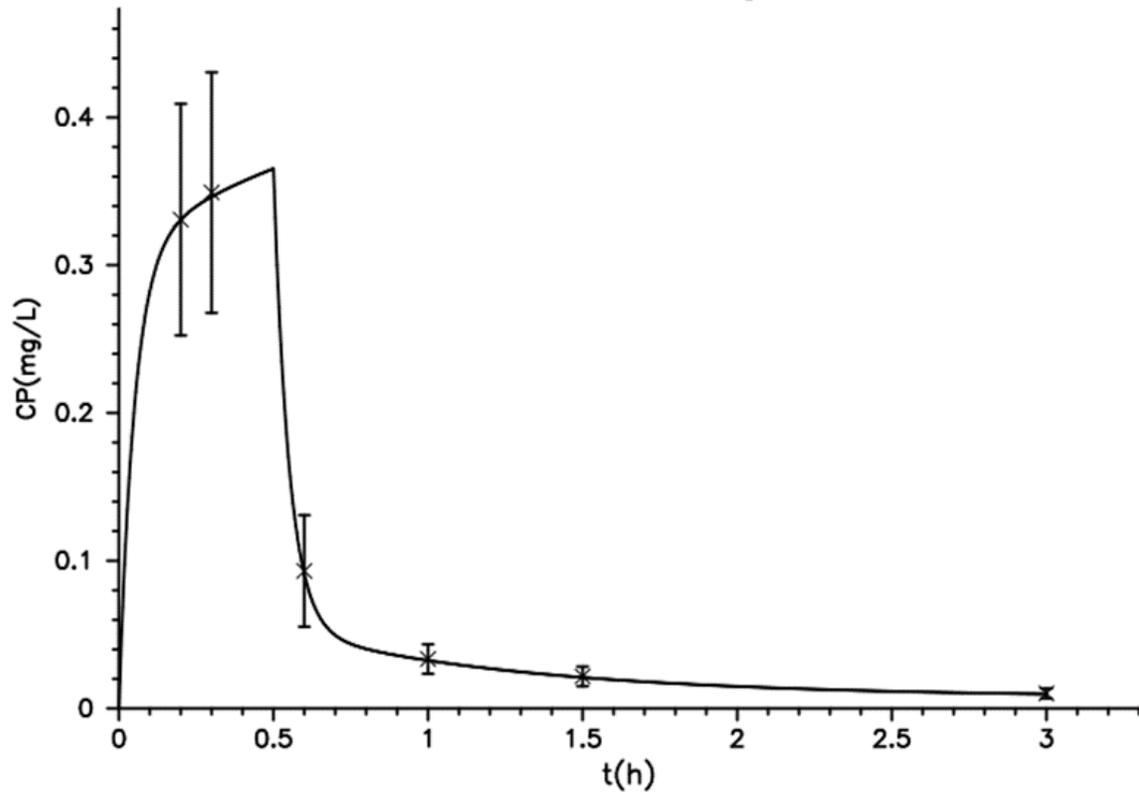
Cl: 17%

Variabilidad residual: 21.6%

CE<sub>50</sub>= NR



## Vinorelbina 50mg IV



## Cloroquina

Población: Pacientes con malaria

Modelo: 2 compartimentos

Dosis: 150mg cada 24 horas y 300 mg cada 24 horas

$K_a$  ( $h^{-1}$ ): 0.14

Cl (L/h): 2.84

$V_d$  (L): 381.6

$Q_2$  (L/h): 3.29

$V_2$  (L): 2760

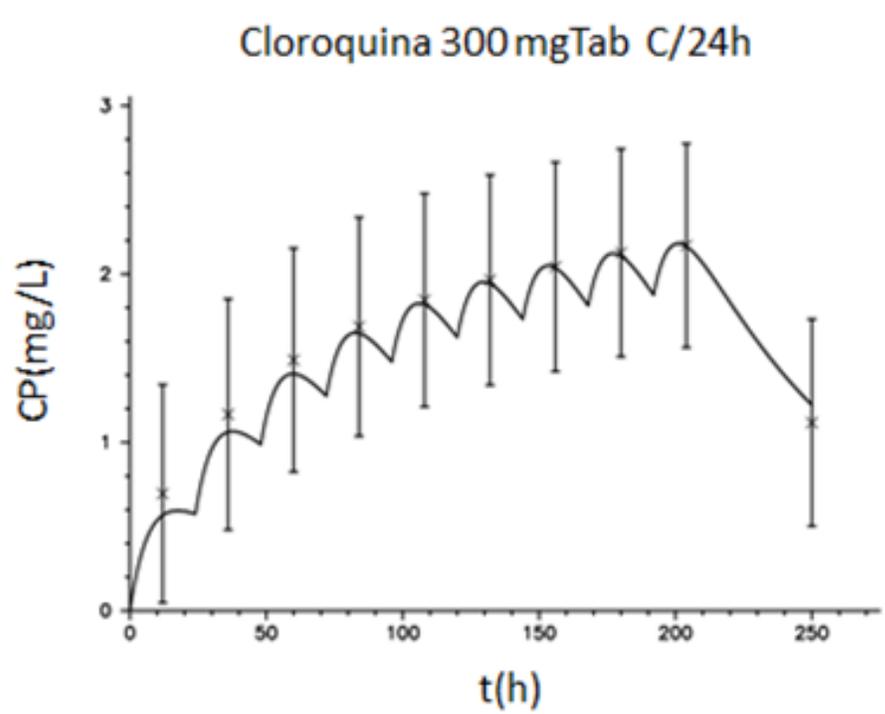
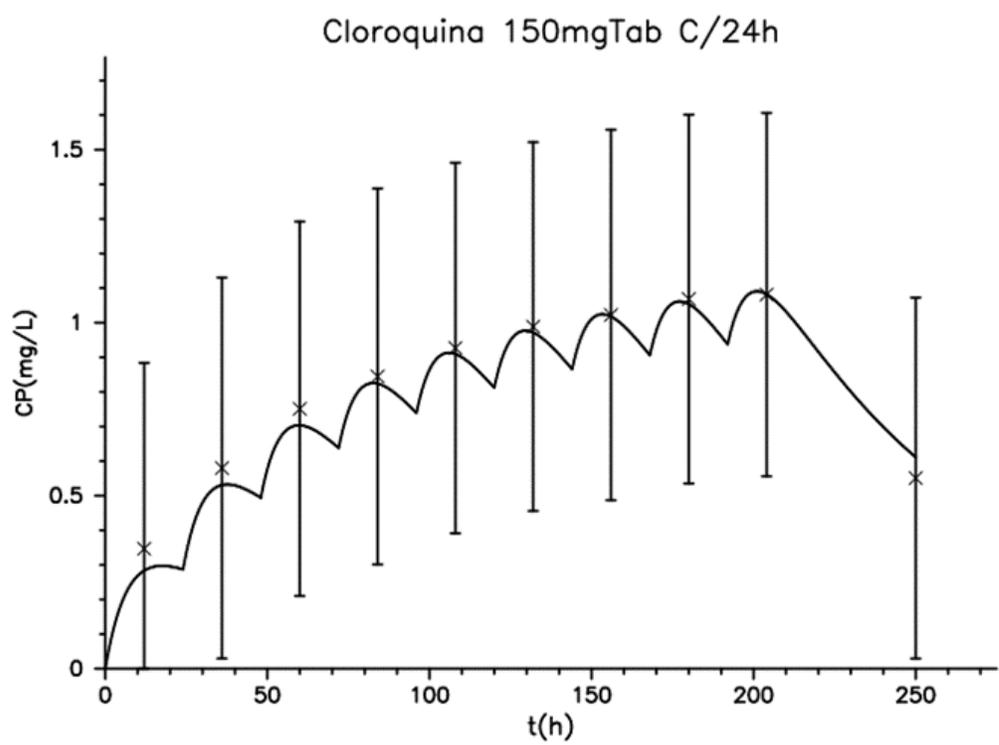
Variabilidad intersujeto:

$V_d$ : 0.57

Cl: 0.3

Error aditivo: 0.5

$CE_{50}$  = 0,78 mg/L



**Anexo III. Hubs y bottlenecks hallados por análisis de ontología de genes.**

<b>Hubs</b>	
LbrM.02.0390	LbrM.27.0850
LbrM.03.0450	LbrM.27.2750
LbrM.04.0370	LbrM.28.0540
LbrM.04.0530	LbrM.28.0710
LbrM.05.0560	LbrM.28.1300
LbrM.09.0960	LbrM.28.2880
LbrM.09.0970	LbrM.28.2990
LbrM.09.0980	LbrM.28.3030
LbrM.10.0970	LbrM.29.0940
LbrM.10.1010	LbrM.29.1350
LbrM.10.1070	LbrM.29.1810
LbrM.10.1080	LbrM.29.1820
LbrM.10.1090	LbrM.29.2670
LbrM.10.1270	LbrM.30.2420
LbrM.12.0230	LbrM.30.2440
LbrM.13.0890	LbrM.30.2590
LbrM.17.0080	LbrM.31.2550
LbrM.18.0950	LbrM.31.2970
LbrM.18.1180	LbrM.31.3150
LbrM.18.1230	LbrM.32.0600
LbrM.19.0950	LbrM.32.1260
LbrM.19.1110	LbrM.32.1270
LbrM.20.0720	LbrM.32.2240
LbrM.20.0730	LbrM.32.3330
LbrM.20.0820	LbrM.33.0340
LbrM.20.2170	LbrM.33.1650
LbrM.20.3080	LbrM.33.2140
LbrM.20.3100	LbrM.33.3020
LbrM.20.3820	LbrM.34.0170
LbrM.21.1140	LbrM.34.1630
LbrM.21.1150	LbrM.34.3990
LbrM.21.1160	LbrM.34.4730
LbrM.21.1310	LbrM.34.5250
LbrM.22.0510	LbrM.35.0660
LbrM.22.0560	LbrM.35.0680
LbrM.24.1000	LbrM.35.2490
LbrM.25.2050	LbrM.35.4600
LbrM.26.0300	LbrM.35.6550
LbrM.26.1260	

<b>Bottlenecks</b>
LbrM.03.0050
LbrM.06.0930
LbrM.09.0730
LbrM.13.0880
LbrM.14.1280
LbrM.16.1360
LbrM.16.1370
LbrM.18.0030
LbrM.19.1820
LbrM.19.1890
LbrM.20.0030
LbrM.20.4800
LbrM.21.0950
LbrM.23.0400
LbrM.26.1560
LbrM.27.0270
LbrM.27.2610
LbrM.30.1840
LbrM.34.0810