

---

**IMPLEMENTACIÓN DE UNA ESTRATEGIA BASADA EN MÉTODOS TEÓRICO-  
COMPUTACIONALES PARA LA BÚSQUEDA Y DISEÑO DE NUEVOS  
INHIBIDORES EN LA ENZIMA UREASA DE HELICOBACTER PYLORI**

**PAULINA VICTORIA VALENZUELA HORMAZÁBAL  
INGENIERO CIVIL EN BIOINFORMÁTICA**

**RESUMEN**

El metabolismo del nitrógeno es fundamental para un adecuado estado de salud en los seres vivos. Además, el nitrógeno de desecho residual producido por el catabolismo de los aminoácidos es excretado como urea por el riñón. Esta molécula de desecho en los mamíferos es clave para el metabolismo en plantas, hongos y bacterias, ya que estos hidrolizan la urea en amonio para conseguir trazas de nitrógeno esenciales para su desarrollo. Para estas formas de vida, la enzima ureasa dependiente de níquel permite hidrolizar la urea y formar amonio. Por otro lado, la urea es utilizada como fertilizante en la agricultura, debido a su rico contenido de nitrógeno. Las enzimas ureasa de diversos microorganismos distribuidos en el suelo hidrolizan los fertilizantes a base de urea, generando amoníaco que es volatilizado al medio ambiente y finalmente perdido. Esta pérdida de nitrógeno genera una reducción en los rendimientos de cultivo afectando a la economía en la agricultura. Además, la liberación de amoníaco provoca graves consecuencias medioambientales como lluvia ácida y gases de efecto invernadero. La combinación de inhibidores de ureasa (IU) con fertilizantes a base de urea ha surgido como una opción viable para disminuir la pérdida de nitrógeno, al inhibir la actividad catalítica de las enzimas ureolíticas distribuidas en el suelo. Desde otro punto de vista, actualmente se estima que el 50% de la población mundial está infectada por *Helicobacter pylori* (*H. pylori*). En el caso de Chile, la tasa de infección es aún mayor, llegando alrededor de 70%. *H. pylori* es la bacteria ureolítica más patógena para el ser humano, ya que tiene una rápida adaptación para sobrevivir en diferentes ambientes, incluso pudiendo subsistir en ambientes ácidos como el estómago. Una vez que esta bacteria ha colonizado el cuerpo, puede provocar numerosas patologías, entre ellas cáncer. El actual tratamiento consiste en antibióticos de amplio espectro. Sin embargo, *H. pylori* ha generado

---

resistencia a estos fármacos de forma progresiva, por lo que la eficacia de la terapia está disminuyendo drásticamente. Además, este tipo de tratamiento genera efectos secundarios. De este modo, han surgido nuevas estrategias terapéuticas que consisten en el uso de IU. Numerosos esfuerzos están centrados en la búsqueda de nuevos inhibidores de ureasa de *H. pylori*, aquí denominada HpU, que sean potentes y selectivos a la vez, para que se pueda establecer una terapia eficaz para erradicar las infecciones por esta bacteria. Esta tesis se centró en implementar un protocolo basado en el método de Cribado Virtual, específicamente en dos sus variantes: Cribado Virtual Basado en Estructura y Cribado Virtual Basado en Farmacóforo. Estas técnicas permitieron realizar una búsqueda en la base de datos de compuestos ZINC15 que posee una alta dimensionalidad. La metodología consistió en aplicar filtros sucesivos, entre los que se encuentran: generar un filtrado a la base de datos mediante reglas farmacocinéticas y fisicoquímicas, crear hipótesis de farmacóforos basados en núcleos de cumarinas, realizar estudios de acoplamiento molecular mediante diferentes algoritmos y por último, realizar cálculos de energía libre de unión a los complejos proteína-ligando, con el objetivo de seleccionar un número limitado de compuestos candidatos que tengan una mejor afinidad de unión a la enzima HpU.

## ABSTRACT

The nitrogen metabolism is fundamental for an adequate state of health in living beings. Also, the nitrogen residual waste produced by the catabolism of amino acids is excreted as urea by the kidney. This waste molecule in mammals is key to metabolism in plants, fungi and bacteria, as they hydrolyze urea into ammonium to obtain trace amounts of nitrogen that is essential for their development. For these life forms, the nickel-dependent enzyme urease allows urea to be hydrolyzed to form ammonium. On the other hand, urea is used as a fertilizer in agriculture, because of its rich nitrogen content. Urease enzymes from various microorganisms distributed in the soil hydrolyze urea-based fertilizers, generating ammonia that is volatilized into the environment and finally lost. This loss of nitrogen generates a reduction in crop yields, affecting the economics of agriculture. In addition, the release of ammonia causes serious environmental consequences such as acid rain and greenhouse gases. The combination of urease inhibitors (UI) with urea-based fertilizers has emerged as a viable option to reduce nitrogen loss by inhibiting the catalytic activity of ureolytic enzymes distributed in the soil. From another point of view, it is currently estimated that 50% of the world's population is infected by *Helicobacter pylori* (*H. pylori*). In the case of Chile, the infection rate is even higher, reaching around 70%. *H. pylori* is the most pathogenic ureolytic bacterium for humans, as it has a rapid adaptation to survive in different environments, even being able to survive in acidic ones such as the stomach. Once this bacterium has colonized the body, it can cause numerous pathologies, including cancer. Current treatment consists of broad-spectrum antibiotics. However, *H. pylori* has generated resistance to these drugs, so the efficacy of the therapy is drastically decreasing. In addition, this type of treatment generates side effects. In this way, new therapeutic strategies have emerged that consist in the use of UI. Numerous efforts are focused on the search for new *H. pylori* urease inhibitors, here called HpU, that are potent and selective, so that an effective therapy can be established to eradicate infections by this bacterium. This thesis was focused in the implementation of a protocol based on the Virtual Screening method. Specifically in two of its variants:

---

Structure-Based Virtual Screening and Pharmacophore-Based Virtual Screening. These techniques allowed a search to be carried out in the ZINC15 compound database, which has a high dimensionality. The methodology consisted of applying successive filters, generating a filtering to the database using pharmacokinetic and physicochemical rules, creating pharmacophore hypotheses based on coumarin nuclei, performing molecular docking studies using different algorithms and finally, performing calculations of free energy of binding to protein-ligand complexes, with the objective of selecting a limited number of candidate compounds that have a better binding affinity to the HpU enzyme.