



Casa abierta al tiempo

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA**  
**Unidad Xochimilco**

**DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD**  
**DEPARTAMENTO DE SISTEMAS BIOLÓGICOS**  
**LICENCIATURA EN QUÍMICO FARMACÉUTICO BIOLÓGICA**

**REPORTE FINAL DE SERVICIO SOCIAL**

**“Estudios de acoplamiento molecular de la quimioteca N015 sobre la enzima  
Poli [ADP-ribosa] polimerasa 1 (PARP1)”**

**PROYECTO GENÉRICO**

**“Obtención de materias primas, principios activos, medicamentos y productos  
biológicos”**

**PRESENTA**

Gabriela Karen Reyes Arteaga

**Matrícula:** 2163026124

**VoBo. Asesores**

Dr. Jaime Pérez Villanueva

Dra. Karen Rodríguez Villar

**Septiembre 2022**

## **Resumen**

El cáncer de mama es una de las enfermedades mortales de alto impacto principalmente en mujeres. A lo largo de los años, la lucha por proporcionar un tratamiento eficiente ha demandado la búsqueda de nuevas dianas terapéuticas. Estudios previos han demostrado que la inhibición de la enzima PARP-1 evita la supervivencia de células cancerosas en pacientes con cáncer de mama que presentan mutaciones en los genes BRCA.

En el presente trabajo se evaluaron *in silico* 208 compuestos con estructuras diversas (quimioteca N05) y 17 nuevas estructuras propuestas sobre la enzima PARP1, empleando tres programas de acoplamiento molecular. De acuerdo con los resultados de consenso, se identificaron 21 compuestos (**39, 48, 53, 56, 57, 58, 60, 61, 62, 63, 71, 93, 139, 140, 149, 182, 185, 188, 190, 192, 193**) como los mejores candidatos con potencial inhibitorio sobre PARP1. Además, las 17 moléculas propuestas por hibridación presentaron buenos resultados en el acoplamiento molecular sobre la proteína de estudio, destacando los compuestos KR-IV, KR-V y KR-XI con los mejores resultados.

**Palabras clave:** *inhibidores PARP1, cáncer de mama, acoplamiento molecular, cribado virtual.*

## **Agradecimientos**

A mis padres y hermanos, por el apoyo incondicional durante toda mi etapa como universitaria, definitivamente nada de lo que he logrado hubiera sido posible sin todo su amor, confianza, dedicación, sacrificio y palabras que me motivaron a la distancia.

A la familia Arteaga Ambriz, por abrirme las puertas de su hogar y acogerme como un miembro más, por demostrarme su apoyo y cariño durante mi estancia en Ciudad de México.

A mis amigos, especialmente a Lupita Chávez, por todo el cariño y apoyo brindado hasta ahora; todas las vivencias divertidas, tristes y extrañas se mantendrán en mi memoria hasta el final.

A mis asesores, por permitir unirme a su equipo de trabajo, su dedicación y paciencia al guiarme en el proyecto.

## Índice de contenido

1.	<b>Introducción</b> .....	5
2.	<b>Marco Teórico</b> .....	7
2.1.	<b>Cáncer de mama</b> .....	7
2.2.	<b>Tratamiento farmacológico</b> .....	7
2.3.	<b>Blancos moleculares</b> .....	8
2.3.1.	<i>Poli ADP-ribosa polimerasa 1 (PARP1)</i> .....	8
2.3.2.	<i>Inhibidores de PARP1</i> .....	9
2.4.	<b>Quimioinformática y estudios <i>in silico</i></b> .....	10
2.4.1.	<i>Acoplamiento molecular</i> .....	11
2.4.2.	<i>Predicción de propiedades de interés farmacéutico</i> .....	12
3.	<b>Planteamiento del Problema</b> .....	13
4.	<b>Objetivos</b> .....	14
4.1.	<b>Objetivo General</b> .....	14
4.2.	<b>Objetivos Específicos</b> .....	14
5.	<b>Metodología</b> .....	15
5.1.	<b>Elección del blanco molecular</b> .....	15
5.2.	<b>Preparación de proteína y compuestos</b> .....	15
5.3.	<b>Validación del método de acoplamiento molecular</b> .....	16
5.4.	<b>Acoplamiento molecular sobre la proteína PARP1</b> .....	17
5.5.	<b>Cribado virtual</b> .....	17
5.6.	<b>Análisis de interacciones ligando-proteína</b> .....	17
5.8.	<b>Diseño de nuevos compuestos inhibidores de PARP1</b> .....	18
6.	<b>Resultados y discusión</b> .....	19
6.1.	<b>Elección y obtención de la estructura de PARP1</b> .....	19
6.1.1.	<i>Validación de la estructura de PARP1</i> .....	19
6.2.	<b>Validación del método de acoplamiento molecular</b> .....	20
6.3.	<b>Cribado virtual por acoplamiento molecular de la quimioteca N015</b> .....	21
6.4.	<b>Interacciones ligando-proteína</b> .....	24
6.5.	<b>Determinación <i>in silico</i> de propiedades ADME de compuestos selectos</b> .....	25
6.6.	<b>Diseño de nuevos inhibidores de PARP1</b> .....	27
6.6.1.	<i>Predicción de propiedades ADME de nuevos inhibidores de PARP1</i> .....	27
6.6.2.	<i>Estudios de acoplamiento molecular sobre PARP1 de las moléculas propuestas</i> .....	29
7.	<b>Objetivos y metas alcanzadas</b> .....	32

<b>8. Conclusión</b> .....	33
<b>9. Perspectivas de la Investigación</b> .....	33
<b>10. Referencias</b> .....	34
<b>11. Anexos</b> .....	37
I. Interacciones ligando-receptor en el sitio activo para los mejores 21 compuestos de la quimioteca N015. ....	37
II. Interacciones ligando-receptor en el sitio activo para compuestos propuestos con mejor score y perfil SwissAdme.....	38

### Índice de figuras

<b>Figura 1.</b> Dominios estructurales de PARP1.	11
<b>Figura 2.</b> Estructura química de Olaparib	12
<b>Figura 3.</b> Desarrollo de fármacos empleando el diseño de fármacos asistido por computadora.	13
<b>Figura 4.</b> Gráfico de Ramachandra para PARP1.	22
<b>Figura 5.</b> Compuestos seleccionados por cribado virtual.	25
<b>Figura 6.</b> Mapa de interacciones 2D del ligando-proteína.	26
<b>Figura 7.</b> Diagrama del huevo hervido para las 21 moléculas de la quimioteca.	27
<b>Figura 8.</b> Estructuras de los compuestos propuestos por hibridación.	29
<b>Figura 9.</b> Diagrama del huevo hervido para las moléculas propuestas.	30
<b>Figura 10.</b> Mapa de interacciones ligando-receptor. Olaparib y KR-IV.	33

### Índice de tablas

<b>Tabla 1.</b> Resultados del acoplamiento molecular PARP1-Olaparib, usando Chimera.	22
<b>Tabla 2.</b> Predicción del perfil ADME de los 21 compuestos seleccionados.	27
<b>Tabla 3.</b> Predicción del perfil ADME para los 17 compuestos propuestos por hibridación.	30
<b>Tabla 4.</b> Resultados de acoplamiento molecular para las moléculas propuestas.	31

## 1. Introducción

El cáncer de mama es una enfermedad con una evolución natural compleja por lo que, a pesar de los avances de la oncología moderna, es la primera causa de muerte por neoplasia en la mujer a nivel mundial.<sup>1</sup>

El tratamiento del cáncer de mama incluye terapia locorregional (cirugía y radioterapia) y sistémica. Esta última incluye la terapia endocrina para la enfermedad con receptores de hormonas positivos, quimioterapia, terapia anti-HER2 para la enfermedad HER2 positiva, agentes estabilizadores óseos, inhibidores de poli ADP-ribosa polimerasa (PARP) para portadores de mutaciones BRCA y recientemente la inmunoterapia. Los inhibidores de PARP han ganado atención como agentes terapéuticos prometedores para el tratamiento de tumores sólidos, incluido el cáncer de mama.<sup>2</sup> Además, las mutaciones BRCA1 y BRCA2 son responsables de la mayoría de los carcinomas de mama. Así mismo, investigaciones recientes con células madre embrionarias no cancerosas de ratón BRCA1 o BRCA2 deficientes, y células de hámster BRCA2 deficientes han demostrado que la inhibición dirigida de la poli (ADP-ribosa) polimerasa (PARP-1) favorece la muerte de las células BRCA mutadas.<sup>3</sup>

En la actualidad, es muy útil emplear herramientas computacionales para analizar el espacio químico y biológico con el fin de agilizar el descubrimiento, diseño, desarrollo y optimización de fármacos. Los estudios *in silico* permiten optimizar la búsqueda de nuevos agentes terapéuticos para el tratamiento de diversas enfermedades.<sup>4</sup>

Los enfoques computacionales comúnmente utilizados en quimioinformática incluyen el diseño de fármacos basado en el ligando (características estructurales para la actividad biológica de un compuesto) y el diseño de fármacos basado en la estructura (enfocado en el receptor y la identificación del sitio activo). Ambos enfoques pueden ser utilizados en el cribado virtual (CV) de quimiotecas con el propósito de identificar compuestos que actúen sobre dianas biológicas de interés farmacológico.<sup>5</sup>

Por lo anterior, el presente trabajo busca mediante cribado virtual por acoplamiento molecular, evaluar *in silico* la afinidad de las moléculas de la quimioteca N015 sobre la cadena A de la proteína PARP1. Además de proponer nuevas estructuras que puedan estudiarse posteriormente *in vitro* e *in vivo* como potenciales agentes antineoplásicos.

## **2. Marco Teórico**

### **2.1. Cáncer de mama**

Actualmente, el cáncer es considerado como un desorden de células que se dividen anormalmente, lo que conduce a la formación de agregados que crecen dañando tejidos vecinos, se nutren del organismo y alteran su fisiología. Además, estas células pueden migrar e invadir tejidos lejanos, donde encuentran un nicho apropiado para continuar su crecimiento originando metástasis que en muchas ocasiones es la causa de muerte entre los individuos afectados.<sup>6</sup>

El cáncer de mama es el cáncer femenino más común en todo el mundo. Se estima que entre el 5 y 10% del cáncer de mama se asocia con una predisposición hereditaria a las mutaciones de la línea germinal, y aproximadamente el 15% de las mutaciones ocurren en los genes de susceptibilidad al cáncer de mama (BRCA1/2).<sup>7</sup>

El cáncer de mama se clasifica en 3 subtipos principales según la presencia o ausencia de marcadores moleculares: receptores de estrógeno, receptores de progesterona y el factor de crecimiento epidérmico humano 2 (HER2).<sup>8</sup>

### **2.2. Tratamiento farmacológico**

La terapia sistémica para el cáncer de mama no metastásico se establece de acuerdo con el subtipo: las pacientes con tumores con receptores hormonales positivos reciben terapia endocrina y una proporción menor recibe además quimioterapia; los pacientes con tumores positivos para HER2 reciben terapia con anticuerpos dirigidos contra HER2 o inhibidores de moléculas pequeñas combinados con quimioterapia; y los pacientes con tumores triple negativos reciben solo quimioterapia.<sup>8</sup>

En los últimos 50 años se ha producido una revolución en el tratamiento farmacológico del cáncer de mama. Inicialmente, los agentes quimioterápicos tradicionales (adriamicina, ciclofosfamida, etc.) fueron usados como terapia única hasta los años 70. Después aparecieron los primeros fármacos antiestrógenos como el tamoxifeno, y cerca del cambio de milenio, surge el primer anticuerpo monoclonal para tratar el cáncer de mama HER2+ (trastuzumab).<sup>9</sup> Sin embargo, la



mayoría de estos tratamientos provocan importantes efectos secundarios a corto plazo como vómito, caída del cabello, dolor, caída del sistema inmune o incluso a largo plazo como daño cardíaco o al sistema nervioso.<sup>10</sup>

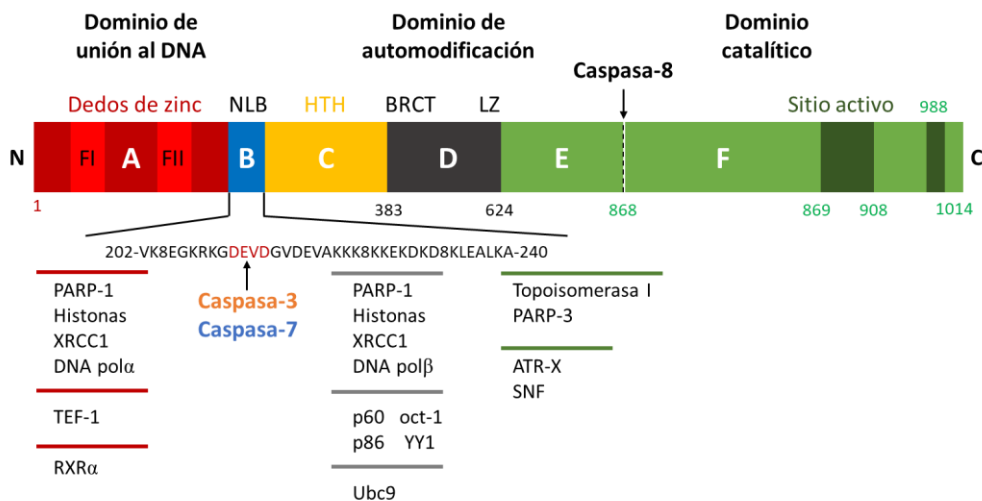
Debido a las desventajas observadas en el tratamiento con la mayoría de los agentes antineoplásicos, la búsqueda de nuevas dianas terapéuticas se ha potenciado. Siendo de especial interés las mutaciones en los genes *BRCA1* y *BRCA2* que se presentan aproximadamente en el 10% de todos los cánceres de mama, mismos que tienen pocas opciones terapéuticas. El estudio de inhibidores de las Poli ADP-ribosa polimerasa (PARP's) han demostrado *in vitro* su eficiencia contra líneas celulares con mutaciones en los genes BRCA, incrementando el interés para desarrollar nuevos agentes terapéuticos que actúen por esta vía.<sup>10</sup>

### **2.3. Blancos moleculares**

#### *2.3.1. Poli ADP-ribosa polimerasa 1 (PARP1)*

Las poli ADP-ribosa polimerasas (PARP's) son una superfamilia de 18 proteínas relacionadas con la recuperación de las células por daño en el ADN, transcripción de genes, apoptosis y estabilidad genómica.<sup>11</sup>

De manera particular, la enzima poli (ADP-ribosa) polimerasa-1 (PARP1) es una proteína pequeña de 113 kDa, que actúa uniéndose al ADN y reparando daños mediante la reparación por escisión de bases. PARP1 está dividida en 6 dominios estructurales: el dominio A de unión al ADN, dominio B, responsable del emplazamiento nuclear de PARP1, el dominio D aceptor del polímero de ADP-ribosa, el dominio F catalítico responsable de la actividad de la enzima, transformando NAD<sup>+</sup> en largos polímeros de ADP-ribosa sobre proteínas nucleares aceptoras, Figura 1. Por su parte, las proteínas BRCA 1/2 tienen un papel fundamental en la recombinación homóloga, reparando daños en cadenas dobles de ADN. En células con mutación del gen BRCA, la inhibición de PARP1, crea un efecto de letalidad sintética, que elimina las células cancerosas al ser incapaces de regenerar el daño en su ADN.<sup>12</sup>

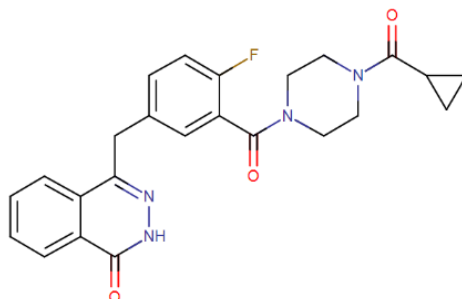


**Figura 1.** Dominios estructurales de PARP1.

### 2.3.2. Inhibidores de PARP1

Los inhibidores PARP1 ejercen su acción mediante la unión al dominio catalítico de PARP1, ocupando el centro de unión para NAD<sup>+</sup>. Por tanto, su efecto inhibitorio se debe a que producen una inhibición competitiva.<sup>12</sup> Además, se demostró que los inhibidores de PARP1 eliminan a las células deficientes en BRCA con una alta eficiencia, observando que las células BRCA +/- y BRCA ++ presentan baja respuesta al tratamiento. Por lo tanto, los inhibidores de PARP1 podrían ser fármacos genéticamente específicos, seguros y eficaces para los cánceres de mama asociados a BRCA1/2.<sup>13</sup>

Actualmente se están evaluando varios inhibidores de PARP para el tratamiento de pacientes con cáncer de mama.<sup>12</sup> Olaparib (Lynparza®, Figura 2), fue el primer inhibidor de PARP autorizado por la FDA (*Food and Drug Administration*) para el tratamiento de cáncer de mama metastásico en 2018. Además, la Sociedad Europea de Oncología Médica (ESMO) y la Agencia Europea de Medicamentos (EMA) recomendaron la extensión de indicación terapéutica del Olaparib para cáncer de ovario y trompas uterinas.<sup>14</sup>

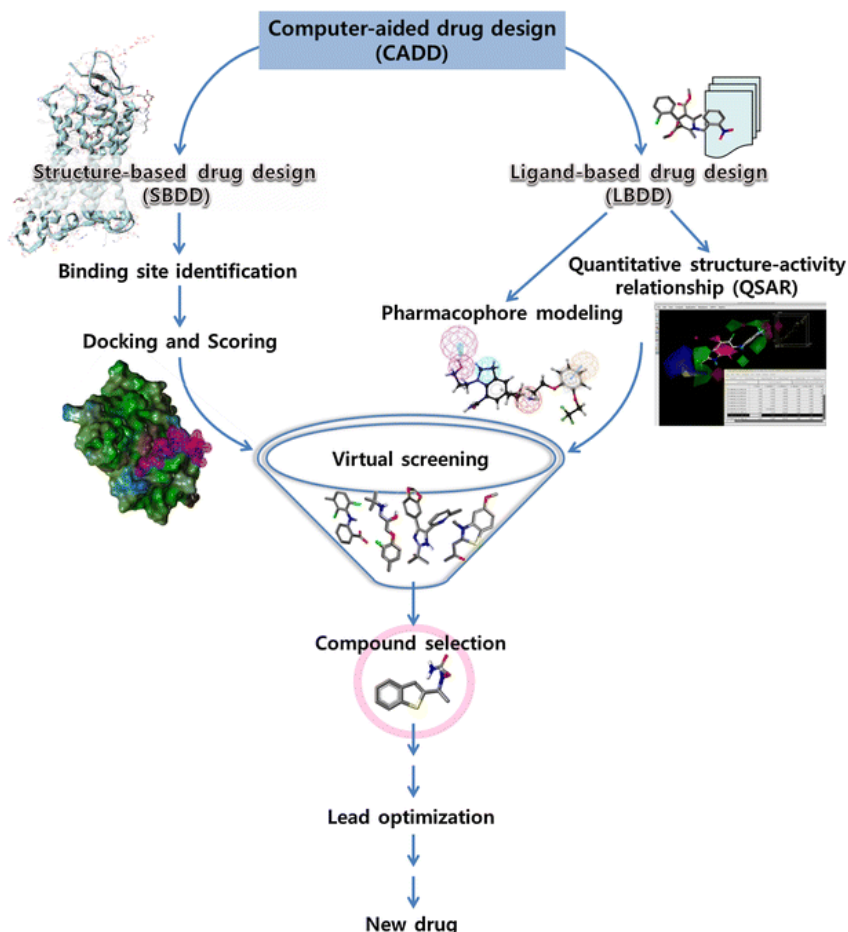


**Figura 2.** Estructura química de Olaparib.

## **2.4. Quimioinformática y estudios *in silico***

Llevar un nuevo medicamento al mercado es un proceso costoso en términos de dinero, mano de obra y tiempo.<sup>5</sup> En la actualidad, es necesario emplear herramientas computacionales para analizar el espacio químico y biológico con el fin de agilizar el proceso de descubrimiento y desarrollo de fármacos. Los estudios *in silico* permiten optimizar la búsqueda de nuevos agentes terapéuticos para el tratamiento de diversas enfermedades.<sup>4</sup>

Los enfoques computacionales comúnmente utilizados en la quimioinformática incluyen el diseño de fármacos basado en el ligando (ej. Modelado del farmacóforo, que identifica una disposición espacial en 3D de características estructurales esenciales para la actividad biológica) y el diseño de fármacos basado en la estructura o en el receptor (ej. Acoplamiento molecular).<sup>4</sup> Ambos enfoques pueden ser utilizados en el cribado virtual (CV) de quimiotecas con el propósito de identificar compuestos que actúen sobre dianas biológicas de interés farmacológico como se muestra en la Figura 3.<sup>5</sup>



**Figura 3.** Desarrollo de fármacos empleando el diseño de fármacos asistido por computadora.

#### 2.4.1. Acoplamiento molecular

El acoplamiento molecular o *docking* es una metodología de simulación por computadora que predice la formación de un complejo de proteína-fármaco, con una precisión relativamente alta. El acoplamiento molecular tiene gran relevancia dentro de la química farmacéutica y el proceso de descubrimiento de fármacos al optimizar la evaluación de grandes bases de datos de moléculas, y minimizar la cantidad de moléculas sintetizadas y pruebas biológicas a realizar.<sup>15</sup>

Durante los últimos 20 años, se han desarrollado más de 60 herramientas y programas de acoplamiento diferentes para uso académico y comercial, como DOCK, AutoDock, Surflex, GOLD, Cdocker, LigandFit, MOE-Dock, LeDock, AutoDock Vina y muchos otros. Entre estos programas, AutoDock Vina, GOLD y MOE-Dock han mostrado superioridad durante la clasificación, obteniendo mejores

puntuaciones.<sup>16</sup> Además, se ha demostrado que estos programas pueden predecir modos de unión experimentales (complejos proteína-ligando) con desviaciones mínimas (RMSD entre 1.5 y 2 Å).

#### 2.4.2. Predicción de propiedades de interés farmacéutico

Los modelos computacionales se han posicionado como una alternativa válida a los procedimientos experimentales para la predicción de propiedades de interés farmacéutico que pueden relacionarse con el perfil ADMET, especialmente en los pasos iniciales, cuando las estructuras químicas investigadas son numerosas pero la disponibilidad de compuestos es escasa.<sup>17</sup>

Actualmente, existe una gran variedad de softwares y plataformas online especializadas en la predicción de descriptores moleculares relacionados con propiedades ADMET, ejemplo de ello son *SwissADME* y *Pass Online*.

*SwissAdme* es una herramienta en línea donde se pueden analizar moléculas orgánicas, a partir del código SMILES. Esta plataforma permite estimar datos ADME y propiedades fisicoquímicas mediante una red neuronal entrenada.<sup>17</sup>

Por su parte *Pass Online*<sup>18</sup> nos permite explorar las posibles propiedades biológicas de los compuestos, en función de su fórmula química. Utiliza fragmentos moleculares en 2D, conocidos como descriptores MNA (*Multilevel Neighborhoods of Atoms*), que sugieren que la actividad biológica de un compuesto químico es función de su estructura molecular. Esta plataforma calcula la probabilidad de actividad (Pa) o inactividad (Pi) sobre blancos de relevancia clínica. Un valor de Pa alto significa que el compuesto tiene más probabilidad de ser activo sobre este blanco.

### 3. Planteamiento del Problema

El cáncer de mama es uno de los problemas de salud pública con mayor impacto sobre la población mundial, debido a sus altos índices de morbilidad y mortalidad, pese a los esfuerzos en materia de salud y los avances en la investigación. Sumado a esto, los tratamientos farmacológicos actuales producen múltiples efectos secundarios; por lo tanto, la búsqueda de nuevos agentes terapéuticos que muestren mayor eficacia en la actividad antineoplásica con un menor índice de efectos adversos es de gran interés. Asimismo, el uso de estrategias quimioinformáticas para esta labor, representa una oportunidad para optimizar el proceso de búsqueda, ejemplo de ello es el cribado virtual por acoplamiento molecular.

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar *in silico* la actividad antineoplásica de la quimioteca N015, constituida por 208 compuestos previamente sintetizados en el laboratorio de Síntesis y Aislamiento de Sustancias Bioactivas de la UAM unidad Xochimilco. La evaluación se realizó sobre la proteína PARP1, empleando acoplamiento molecular. Además, se propuso una nueva serie de compuestos como nuevos agentes inhibidores potenciales de PARP1.

## **4. Objetivos**

### **4.1. Objetivo General**

- Identificar compuestos potencialmente activos sobre la enzima PARP1, mediante el cribado virtual basado en estructura de la base de datos N015.

### **4.2. Objetivos Específicos**

- Realizar una revisión bibliográfica sobre blancos moleculares relacionados con cáncer de mama.
- Preparar los compuestos (ligandos) de N015 y proteínas PARP1 para realizar estudios de acoplamiento molecular.
- Realizar estudios de acoplamiento molecular sobre PARP1 utilizando distintos programas computacionales.
- Identificar y seleccionar compuestos potencialmente activos sobre PARP1.
- Proponer una serie de estructuras novedosas que busque mejorar el acoplamiento encontrado para los compuestos de la base de datos N015.

## 5. Metodología

### 5.1. Elección del blanco molecular

La revisión bibliográfica de los distintos blancos moleculares de mayor relevancia clínica se realizó a partir de la información descrita para los fármacos antineoplásicos aprobados recientemente por la FDA. La información fue consultada en *DrugBank*, ChemBL y artículos científicos.

La elección de la proteína PARP1 corresponde a su relación con la eliminación de células cancerosas con mutación del gen BRCA y su incapacidad para regenerar el daño en el ADN, tras la inhibición de esta proteína. Además, de contar con inhibidores naturales y sintéticos conocidos. Así como, disponibilidad de estructuras 3D con buena resolución ( $<3\text{\AA}$ ) en la base de datos *Protein Data Bank*.

### 5.2. Preparación de proteína y compuestos

La estructura de la proteína PARP1 se recuperó de *Protein Data Bank* como archivo \*.pdb y se sometió a minimización de la energía (optimización de la estructura 3D) utilizando la herramienta “*structure minimization*” y el campo de fuerza AMBERff14SB, dentro del programa Chimera.<sup>19</sup> Durante la minimización se eliminaron iones, moléculas de agua y el ligando cristalizado, así como la adición de hidrógenos polares y cargas *Gasteiger*. Adicionalmente, el complejo PARP1–Olaparib se minimizó en la plataforma de Yasara<sup>20</sup> y posteriormente la estructura se limpió en el programa *Pymol* (eliminación de iones, moléculas de agua y el ligando cristalizado).

La evaluación y selección de la proteína se realizó a partir del gráfico de Ramachandran, generado en la plataforma *Ramachandra plot*. El gráfico con mejor configuración, es decir, aquella estructura con el menor número de aminoácidos en zonas no favorecidas fue elegida para posteriores ensayos.

Los 208 compuestos de la quimioteca se construyeron en *ChemSketch* (archivos \*.mol2) y se minimizaron dentro del programa Avogadro, utilizando el campo de fuerza MMFF94 y el algoritmo de Gradientes conjugados. Los archivos se guardaron en formato \*.pdb. Por último, la proteína y ligandos fueron convertidos a archivos con extensión \*.pbdqt en el programa Pyrx para su posterior uso.



### 5.3. Validación del método de acoplamiento molecular

La elección de condiciones de análisis y validación del método se realizó a partir del cálculo del RMSD (desviación cuadrática media) entre la estructura cristalizada y acoplada del ligando Olaparib (09L). Para ello, se construyó el ligando a partir del código SMILES utilizando *ChemSketch* y *Avogadro*, bajo las condiciones descritas anteriormente para los compuestos de la base de datos N015.

Utilizando los programas Autodock Vina<sup>21</sup> y PyRx<sup>22</sup>, se realizó el acoplamiento molecular del ligando generado sobre la proteína a valores de exhaustividad de 8, 25, 50, 100, 250, 500 y 1000 ciclos, empleando el algoritmo de búsqueda por gradientes y las coordenadas de la caja: X= -20.4, Y=18.5, Z= 26.27 con dimensiones de 0.9913 Å (sitio de unión a Olaparib). Los archivos de salida con los modos de unión fueron analizados en *AutoDockTools*.<sup>23</sup> Los modos de unión con mejor *score* de cada corrida se emplearon para el cálculo de RMSD en el programa AutodockTools (v.1.5.7rc) utilizando como referencia el ligando cristalizado Olaparib (09L). Se seleccionó el mejor resultado (RMSD < 2Å) y con ello, se determinó el número de los ciclos con los que se trabajaría posteriormente.

Adicionalmente, se llevó a cabo el acoplamiento molecular del ligando generado sobre la proteína de estudio, usando Autodock 4.2 desde PyRx. Se utilizó la configuración marcada por el programa (10 corridas y el algoritmo de búsqueda Lamarckiano), y las coordenadas y dimensiones de caja descritas arriba. De igual forma se eligieron los archivos de salida (\*.dlg), con el mejor *score* para el cálculo del RMSD dentro de AutodockTools (v.1.5.7rc). En ambos programas el *score* está dado por la energía de unión descrita como  $\Delta G$  (kcal/mol), por tanto, los valores negativos implican mayor afinidad entre el ligando y la proteína.

Por último, utilizando el programa GOLD<sup>24</sup> se realizó el acoplamiento molecular del ligando generado sobre la proteína a 100 corridas con las mismas coordenadas y el tamaño de caja descritas previamente, usando el algoritmo genético y se determinó el RMSD para los archivos de salida con el mejor *score*, en este caso se usó la función de puntuación *GoldScore* para evaluar la afinidad ligando-proteína, donde un valor cercano a 100 implica mayor afinidad.

#### **5.4. Acoplamiento molecular sobre la proteína PARP1**

Una vez seleccionados los parámetros del estudio, los 208 compuestos de la quimioteca se sometieron a acoplamiento molecular sobre la cadena A de la proteína PARP1 usando los tres programas. Las coordenadas y dimensiones de la caja fueron descritos previamente (sección 5.3) y el número de corridas utilizadas fueron: AutoDock vina = 50; Autodock 4.2 = 100 y GOLD = 100.

Posteriormente, se recobraron los modos de unión con mejor *score* para cada compuesto en tres programas. Los valores de *score* se sometieron a un proceso de normalización de datos para establecer valores de afinidad entre 0 y 1, donde 1 implicaría mayor afinidad.

#### **5.5. Cribado virtual**

Se construyó una tabla con los tres valores normalizados de los *scores* para cada compuesto. La tabla resultante se graficó en 3D dentro del programa DataWarrior<sup>25</sup> y se utilizó un filtro para recuperar los compuestos con valores de afinidad  $\geq 0.71$  en los tres ejes. Los compuestos resultantes por consenso se identificaron como candidatos potencialmente activos.

#### **5.6. Análisis de interacciones ligando-proteína**

Los 21 compuestos elegidos por consenso se analizaron en el programa *Discovery Studio*<sup>26</sup> en conjunto con la proteína y se generaron los diagramas de interacciones en 2D. Con la información obtenida se analizaron el número y tipo de interacción entre los aminoácidos de la proteína y cada uno de los compuestos. El análisis tomó como referencia las interacciones reportadas para el ligando cristalizado (09L).

#### **5.7. Análisis de propiedades de interés farmacéutico**

Los 21 compuestos seleccionados por cribado virtual se llevaron a la plataforma de *SwissADME*,<sup>17</sup> usando los códigos SMILES, donde se calcularon descriptores moleculares de interés farmacéutico como: lipofilia, solubilidad, criterios químico-farmacéuticos y farmacocinéticos (absorción, permeabilidad, interacción con isoformas del citocromo), entre otros.

Adicionalmente, a través de la plataforma *PassOnline*, se analizó la potencial actividad sobre blancos terapéuticos relacionados con la actividad inhibitoria sobre PARP1, para cada uno de los compuestos, usando como valor de cohorte  $P_a > 0.75$  (potencial de actividad).

### **5.8. Diseño de nuevos compuestos inhibidores de PARP1**

A partir de la estructura de los compuestos con mejor *score*, mayor número de interacciones ligando-proteína y buenas propiedades calculadas, se propusieron 17 nuevos compuestos por el método de hibridación. Los compuestos propuestos combinaron características como los núcleos base y los grupos funcionales de los compuestos de la quimioteca y el Olaparib (ligante 09L).

Los compuestos propuestos se sometieron a evaluación dentro de la plataforma *SwissADME* y los cinco mejores candidatos se evaluaron por acoplamiento molecular en los tres programas de acoplamiento molecular, bajo las mismas condiciones descritas en la sección 5.4. Finalmente, se generó el esquema de interacciones ligando-proteína dentro del programa *Discovery Studio* para cada compuesto.

## 6. Resultados y discusión

### 6.1. Elección y obtención de la estructura de PARP1

Con base en la revisión bibliográfica de las dianas terapéuticas para el tratamiento de cáncer de mama, se identificó a la proteína HER2 como uno de los blancos más relevantes y estudiados en los últimos años. Sin embargo, los inhibidores conocidos de esta proteína producen efectos secundarios importantes y baja selectividad por su proteína homóloga HER1. Por ello, se ha buscado dirigir los estudios hacia otras dianas terapéuticas clave de la enfermedad.

De esta manera, se identificó a la proteína PARP1 como una excelente candidata para la terapia dirigida, tomando en cuenta el papel importante que toma dentro del ciclo de enfermedad, su relación con el tratamiento de cáncer de mama resistente, la descripción de compuestos inhibidores naturales y sintéticos con buena actividad, y la disponibilidad de la estructura 3D, con buena resolución ( $<3\text{\AA}$ ) y múltiples reportes dentro de la base de datos *Protein Data Bank*.

Para los estudios de acoplamiento molecular, se seleccionó la proteína cristalizada con Olaparib (PDB: 7KK4), fármaco antineoplásico con actividad inhibitoria sobre la cadena A de PARP1.

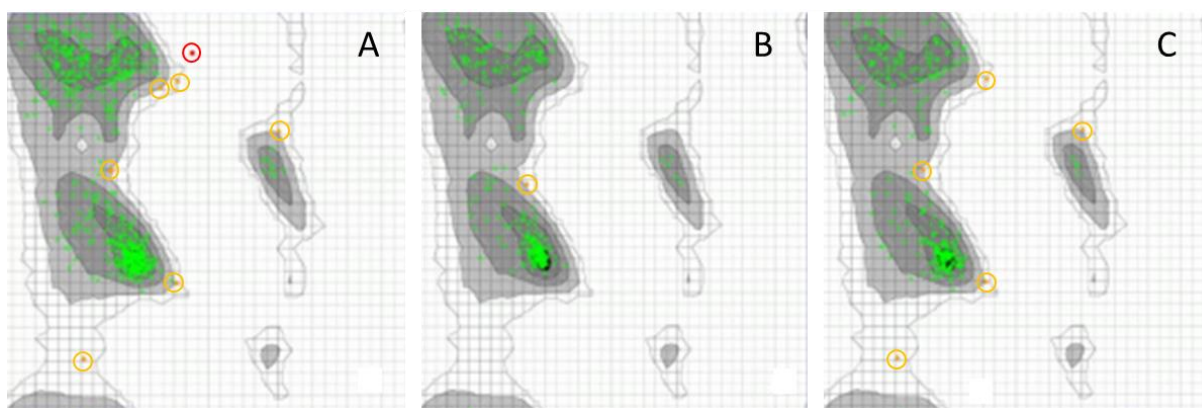
#### 6.1.1. Validación de la estructura de PARP1

La proteína fue procesada en el programa *Chimera*, donde se removieron moléculas de agua, iones y el ligante cristalizado, para luego ser minimizada. Adicionalmente, la cadena seleccionada de la proteína previamente limpia fue minimizada en el servidor Yasara usando el campo de fuerza YASARA.

Para evaluar la estructura minimizada se obtuvieron los gráficos de Ramachandran para ambas proteínas procesadas y la proteína cruda. Este gráfico se utilizó como herramienta para validar la estructura de la proteína modelada en función de los ángulos  $\phi$  (phi),  $\psi$  (psi) y  $\omega$  (omega), donde se proporciona información sobre el número de residuos de aminoácidos (aa) que se encuentran en las regiones permitidas, medianamente permitidas y regiones no permitidas. Una minimización óptima implica la totalidad o la mayoría de los aminoácidos localizados dentro de las zonas permitidas.<sup>27</sup>

En la Figura 4 se muestran los gráficos de Ramachandran resultantes para cada proteína, donde se observó que la minimización en ambos programas superó a lo observado en la proteína original (Figura 4A) que arrojó un 98.669% de residuos en regiones permitidas (verde), 1.165% en regiones medianamente permitidas (naranja) y 0.166% en las no permitidas (rojo). Mientras que en el caso de la minimización con *Chimera* (Figura 4B) arrojó un 99.667% de residuos en regiones permitidas y el resto en regiones medianamente permitidas. En contraste, la minimización con *Yasara* (Figura 4C) arrojó el menor porcentaje de residuos en regiones permitidas 98.333% y el resto de los residuos en zonas medianamente permitidas.

De acuerdo con esta evaluación, se seleccionó la proteína generada con el programa *Chimera* para los posteriores estudios, al presentar las mejores estadísticas y la mejor estructura tridimensional.



**Figura 4.** Gráfico de Ramachandra para PARP1. (A) proteína cruda, (B) proteína minimizada en Chimera, (C) Proteína minimiza en Yasara. Rojo: aa en zonas prohibidas; Naranja: aa en zonas medianamente permitidas; Verde: aa en zonas permitidas.

## 6.2. Validación del método de acoplamiento molecular

La validación del método de acoplamiento molecular consiste en comprobar si las condiciones de estudio propuestas encuentran un modo de unión semejante al observado para el ligante cristalizado. Para ello, se utiliza la desviación media cuadrática (RMSD) como parámetro de medición, ésta compara las coordenadas de los átomos de la estructura acoplada contra la estructura de referencia (ligando cristalizado). Los valores aceptables de RMSD deben ser inferiores a 2.0 Å.<sup>28</sup>

En la Tabla 1, se muestran los resultados de acoplamiento molecular generados en Autodock Vina variando el número de corridas. Se observó que a partir de los 25 ciclos el RMSD es menor a 2.0 Å siendo suficiente para lograr un arreglo similar al ligante cristalizado, asegurando que el método es eficiente y puede emplearse para la evaluación de los compuestos de la quimioteca. No obstante, se eligió un valor de 50 en la exhaustividad para la realización del estudio con el fin de incrementar la probabilidad de encontrar modos de unión con alta afinidad sin aumentar significativamente el tiempo de cálculo.

**Tabla 1.** Resultados del acoplamiento molecular PARP1-Olaparib, usando *Chimera*

Exhaustividad	RMSD	Energía de Unión (kcal/mol)
8	3.061	-12.8
25	1.508	-12.6
<b>50</b>	<b>1.517</b>	<b>-12.7</b>
100	1.545	-12.5
250	1.584	-12.7
500	1.321	-12.7
1000	1.317	-12.7

Por otro lado, el estudio de acoplamiento molecular usando Autodock 4.2 se realizó con el número de ciclos predispuestos por el programa (10 corridas) obteniendo un RMSD=1.831 Å para el modo de unión con mejor *score*. Mientras, que en el estudio usando el programa GOLD se utilizaron 100 corridas, obteniendo un RMSD=1.425 Å para el mejor modo de unión. Lo anterior indica que ambas metodologías propuestas cumplen satisfactoriamente con los requerimientos y son óptimas para los estudios posteriores.

### 6.3. Cribado virtual por acoplamiento molecular de la quimioteca N015

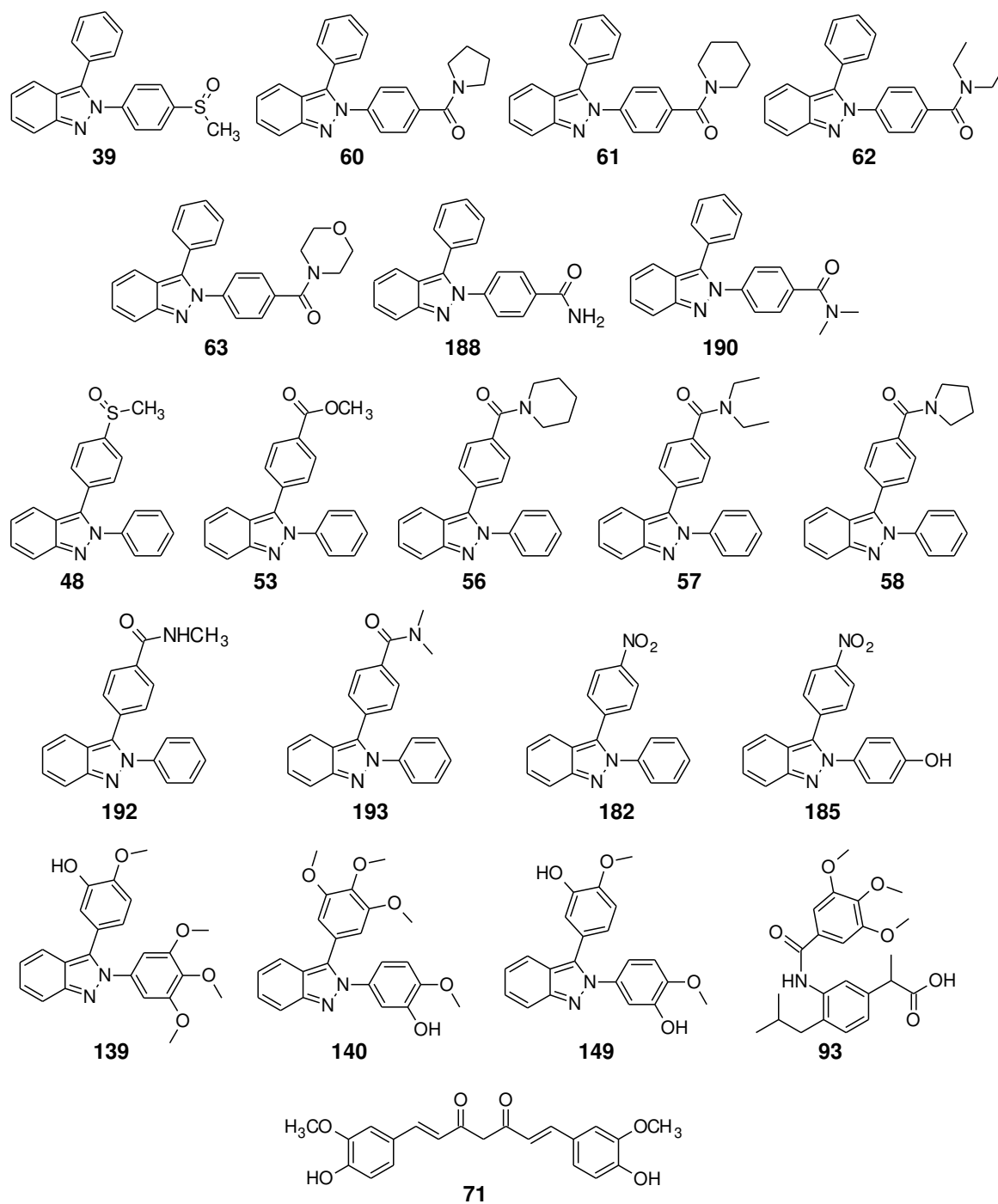
Los 208 compuestos pertenecientes a la quimioteca N015 fueron evaluados en los tres programas de modelado molecular, bajo las condiciones de trabajo descritas anteriormente.

Los modos de unión de cada molécula evaluada fueron analizados en AutoDock Tools, y se recuperaron aquellos con los mejores *scores*. De manera general, se observó que ninguno de los compuestos analizados superó la energía de unión que

mostró el ligante cristalizado Olaparib (-12.7 kcal/mol). Sin embargo, se encontraron algunos compuestos con energías de unión cercanas, tal es el caso del compuesto **56** que presentó la mejor energía de unión (-11.1 kcal/mol) entre las moléculas de la quimioteca usando Autodock 4.2. Además, se observó que los datos arrojados por los tres programas, a pesar de manejar funciones de puntuación distintas, mostraron concordancia entre ellos en la mayoría de los casos.

Enseguida, se procedió a seleccionar aquellas moléculas con mayor probabilidad de presentar actividad sobre la enzima PARP1, efectuando un consenso entre los resultados de los tres estudios. Para ello, se realizó la normalización de los valores de la función de puntuación, usando el mejor *score* de cada molécula analizada y ajustándolo a una escala de 0 a 1, donde 1 representa el máximo *score*. Esto se realizó para los tres programas. Posteriormente, los datos normalizados se emplearon para generar un gráfico 3D, donde cada eje representó los resultados de cada programa. Finalmente, se recobraron los compuestos con valores >0.71 en los tres ejes, encontrando 21 compuestos dentro de ese rango.

En la Figura 5 se muestran las estructuras de los compuestos seleccionados con mejores resultados de acoplamiento molecular, donde se puede observar que la gran mayoría de los compuestos poseen el mismo núcleo 2,3-difenil-1*H*-indazol, y estos se encuentran sustituidos con grupos carboxamida, en el anillo de la posición 2 o 3.



**Figura 5.** Compuestos seleccionados por cribado virtual.

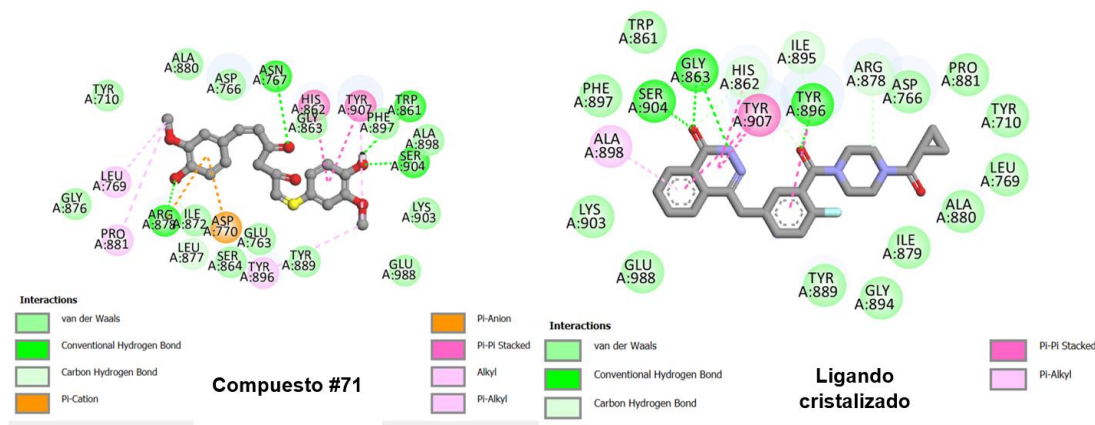


## 6.4. Interacciones ligando-proteína

El análisis de la presencia o ausencia de los diferentes tipos interacciones entre el ligando y aminoácidos específicos del sitio de unión de la proteína, resulta útil para la evaluar la afinidad del ligante sobre dicho sitio activo y generar una mejor aproximación sobre la actividad biológica esperada.<sup>29</sup>

Los modos de unión de los compuestos seleccionados por cribado virtual se visualizaron en el programa *Discovery Studio* junto con la estructura de la proteína, donde se generaron los diagramas de interacción en 2D.

De manera general, los 21 compuestos analizados presentaron distintos tipos de interacciones, destacando las interacciones  $\pi$ - $\pi$ ,  $\pi$ -alquilo y puentes de hidrógeno (interacciones fuertes) y múltiples interacciones de van der Waals (interacción débil). Cabe destacar que el compuesto **71** presentó 11 de las 19 interacciones observadas para ligando cristalizado Olaparib. En los diagramas de la Figura 6 se puede observar que ambas moléculas presentan un número importante de interacciones dentro del sitio activo, pero difieren en el tipo interacción, lo cual no descarta la relación con la actividad inhibitoria sobre PARP1. Este resultado es de esperarse al tratarse de núcleos y sustituyentes diferentes.<sup>30</sup>



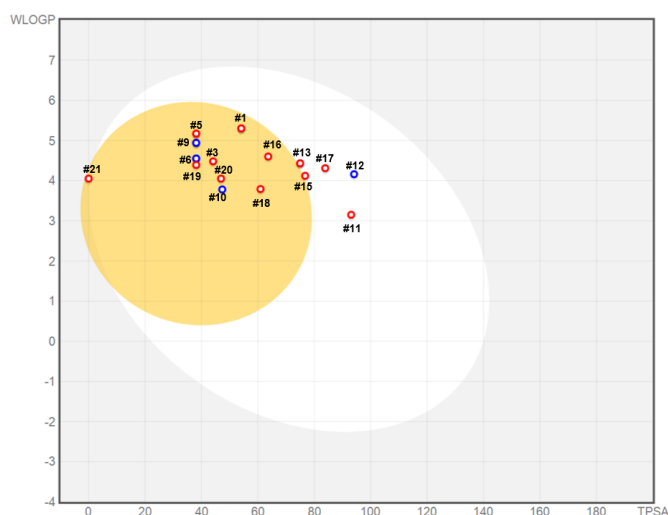
**Figura 6.** Mapa de interacciones 2D del ligando-proteína.

En el Anexo I se detallan las interacciones observadas para los 21 compuestos seleccionados y para el ligando cristalizado.

### 6.5. Determinación *in silico* de propiedades ADME de compuestos selectos

Los fracasos durante la fase de desarrollo de fármacos se relacionan en gran medida con las propiedades farmacocinéticas y biodisponibilidad limitada, pudiendo causar toxicidad. La absorción gastrointestinal y el acceso al cerebro son dos características cruciales para el desarrollo de un fármaco. Estos pueden estimarse a partir de parámetros como el peso molecular, logP, área topológica superficial, entre muchas otras, que están asociadas con la lipofilia y polaridad de las moléculas. Es por ello, que la representación gráfica del diagrama del “huevo hervido” muestra la potencial absorción gastrointestinal (zona blanca) y cruce de barrera hematoencefálica (zona amarilla) de moléculas de prueba.<sup>31</sup>

En la Figura 7 se representa el diagrama del huevo hervido para los 21 compuestos seleccionados. Se puede observar que el 80% de los compuestos lograrían atravesar la barrera hematoencefálica (zona amarilla); sin embargo, debido a la localización de la enzima PARP1 y actividad biológica de interés no se consideraría favorecedor el cruce de dicha barrera. Por otro lado, la mayoría de los compuestos se catalogan como no sustratos de la glicoproteína P, lo cual implicaría que tendrían menos probabilidad de ser expulsados de la célula y con ello aumentar la posible acción terapéutica esperada.



**Figura 7.** Diagrama del huevo hervido: quimioteca.

Adicionalmente, se evaluó el perfil fisicoquímico de los compuestos, tomando como referencia distintas reglas utilizadas en química farmacéutica, relacionadas con la biodisponibilidad y el carácter *druglikeness*. De acuerdo con la literatura, para que un compuesto cumpla con las reglas de Lipinski y sea un candidato a fármaco con buena biodisponibilidad oral, este deberá cumplir cuatro características: 1) tener un peso molecular <500 Da (PM), 2) tener un número de donadores de puente de hidrógeno <5 (DPH), 3) tener un número de aceptores de puente de hidrógeno <10 (APH), y 4) tener un coeficiente de reparto octanol-agua <5.26 (log P).

En la Tabla 2 se detallan algunos descriptores fisicoquímicos y criterios farmacéuticos más relevantes para los 21 compuestos. Los resultados muestran que todos los compuestos estudiados cumplen con las reglas de Lipinsky, Ghose, Egan y Muege. Además, no reportan alertas PAINS o Brenk, lo cual sugiere que son estructuras seguras. Por otro lado, la mayoría de los compuestos fueron identificados como inhibidores de las principales isoformas del citocromo P450 (CYP450), los cuales están relacionados con el metabolismo de fármacos.

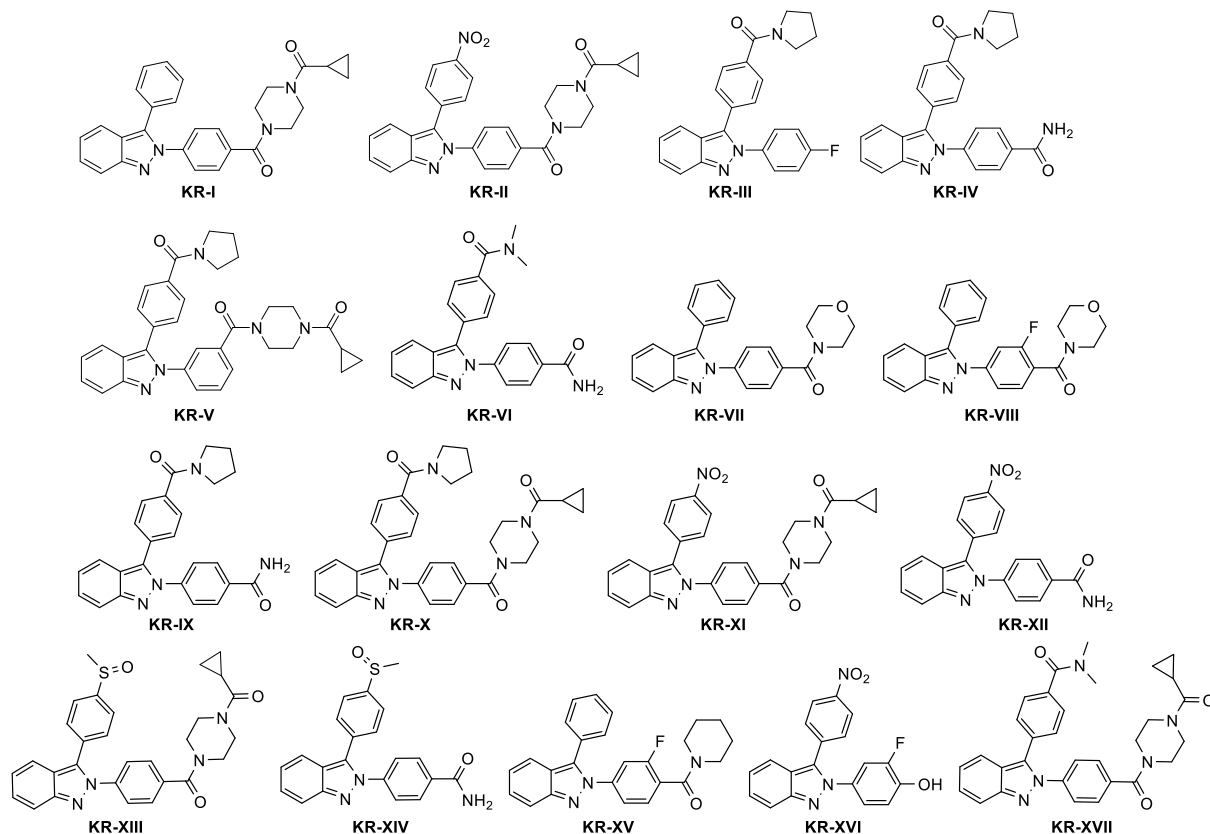
**Tabla 2.** Predicción del perfil ADME de los 21 compuestos seleccionados

Compuesto	Criterios farmacéuticos							Alertas		Inhibición de CYP450			
	Log P (Lipofilia)	Log S (Solubilidad)	Lipinski	Ghose	Veber	Egan	Muege	PAINS	Brenk	CYP2 C19	CYP2 C9	CYP2 D8	CYP3 A4
39	3.16	-4.88	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+
48	3.13	-4.88	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+
53	3.44	-5.22	0	0	0	0	0	0	0	+	+	-	-
56	3.61	-5.75	0	0	0	0	1	0	0	+	+	-	+
57	3.76	-5.49	1	0	0	0	1	0	0	+	+	+	+
58	3.48	-5.46	1	0	0	0	0	0	0	+	+	-	+
60	3.67	-5.46	1	0	0	0	0	0	0	+	+	-	+
61	3.87	-5.75	1	0	0	0	1	0	0	+	+	-	+
62	3.86	-5.49	1	0	0	0	1	0	0	+	+	+	+
63	3.62	-5.00	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+
71	3.27	-3.94	0	0	0	0	0	0	0	-	+	-	+
93	3.58	-4.76	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	-
139	3.90	-5.27	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+
140	3.68	-5.27	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+
149	3.31	-4.99	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+
182	2.75	-5.22	0	0	0	0	0	0	0	+	+	-	-
185	2.31	-5.06	0	0	0	0	0	0	0	+	+	-	-
188	2.53	-4.61	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	-

<b>190</b>	3.52	-5.03	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+
<b>192</b>	3.02	-4.85	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+
<b>193</b>	3.40	-5.03	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+

## 6.6. Diseño de nuevos inhibidores de PARP1

Utilizando como base las estructuras de las 21 moléculas seleccionadas por cribado virtual y el ligando cristalizado (Olaparib), se construyeron 17 nuevas moléculas por hibridación. En la Figura 8 se muestran las estructuras de los derivados propuestos.



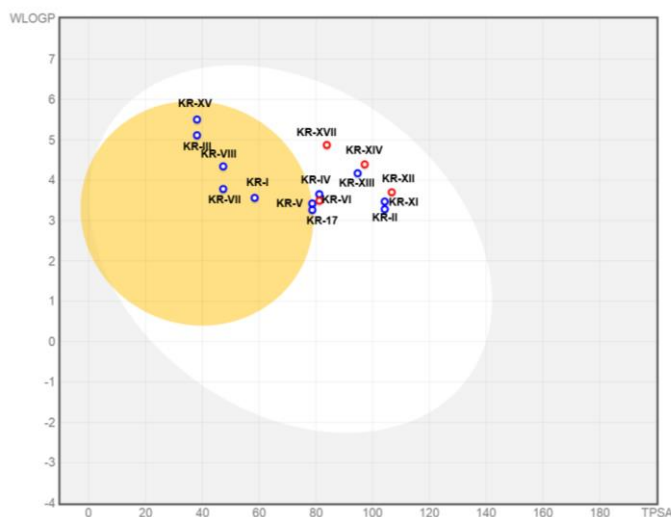
**Figura 8.** Estructuras de los compuestos propuestos por hibridación.

### 6.6.1. Predicción de propiedades ADME de nuevos inhibidores de PARP1

Se determinó el perfil ADME de las moléculas propuestas usando la plataforma *SwissADME* con el propósito de verificar si cumplen con los criterios necesarios para ser candidatos a evaluación biológica. Se calculó la lipofilia, polaridad, absorción gastrointestinal (GI) y barrera hematoencefálica, entre otros.

En la Figura 9 se muestra el diagrama del huevo hervido para los 17 compuestos propuestos. En este se puede observar que 10 compuestos evaluados (58.82%) cruzarían la barrera GI (zona blanca) mientras que los otros 7 (41.18%) podrían

llegar a cruzar la barrera hematoencefálica (zona amarilla). Estos últimos, tendrían mayor lipofilia y dado que la proteína de interés se encuentra dentro de la célula, esto representaría un inconveniente. Además, se puede observar que la gran mayoría de los compuestos serían sustrato de la glicoproteína P, lo cual está relacionado con la actividad de las bombas de reflujo.



**Figura 9.** Diagrama del huevo hervido: Moléculas propuestas.

Adicionalmente, en la Tabla 3 se detallan los descriptores y criterios farmacéuticos determinados para los 17 compuestos. La evaluación de los criterios farmacéuticos muestra algunos compuestos con violaciones, destacando **KR-V** y **KR-X** por tener el mayor número de violaciones según los criterios de Ghose, lo cual indica que estos podrían no tener un perfil deseable y esto es de esperarse debido al tamaño y características estructurales de las moléculas. Sin embargo, lo anterior no es motivo para descartar algún compuesto debido a que los avances en formulación y tecnología farmacéutica han permitido hacer uso de agentes terapéuticos catalogados dentro del grupo IV de la clasificación biofarmacéutica. Adicionalmente, la mayoría de los compuestos propuestos aparecen como posibles sustratos de la glicoproteína P e inhibidores de las principales isoformas de CYP450. Por otro lado, de acuerdo con el criterio de complejidad sintética, la mayoría de las moléculas tiene valores  $< 4$ , lo cual implica que las estructuras propuestas pueden prepararse fácilmente por metodologías descritas en la literatura.

**Tabla 3.** Predicción del perfil ADME para los 17 compuestos propuestos por hibridación

Compu esto	Criterios farmacéuticos							Alertas		Inhibición de CYP450					Comp lejida d sintéti ca
	Log P (Lipof ilia)	Log S (Solubili dad)	Li pi ns ki	Gh os e	Veb er	Eg an	Mu eg e	PAI NS	Bren k	CY P1 A2	CYP 2C19	CYP 2C9	CY P2 D8	CY P3 A4	
KR-I	3.87	-5.26	0	1	0	0	0	0	0	-	+	+	+	+	3.07
KR-II	3.29	-5.02	0	2	0	0	0	0	2	-	+	+	-	+	4.62
KR-III	3.62	-5.61	1	0	0	0	0	0	0	+	+	+	-	+	2.67
KR-IV	3.19	-4.90	0	0	0	0	0	0	0	-	+	+	+	+	2.79
KR-V	4.35	-5.63	1	3	0	0	0	0	0	-	+	+	+	+	3.74
KR-VI	2.84	4.46	0	0	0	0	0	0	0	-	-	+	-	+	2.69
KR-VII	3.62	-5.00	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+	+	2.77
KR-VIII	3.55	-5.15	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	-	+	2.94
KR-IX	3.19	-4.90	0	0	0	0	0	0	0	-	+	+	+	+	2.79
KR-X	4.52	-5.63	1	3	0	0	0	0	0	-	+	+	+	+	3.65
KR-XI	3.7	-5.33	0	2	0	0	0	0	2	-	+	+	+	+	3.29
KR-XII	2.25	-4.64	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	-	-	2.58
KR-XIII	3.93	-4.99	0	0	0	0	0	0	0	-	+	+	+	+	3.80
KR-XIV	2.64	-4.30	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+	+	3.07
KR-XV	3.82	-5.91	1	0	0	0	1	0	0	+	+	+	-	-	2.91
KR-XVI	2.58	-5.22	0	0	0	0	0	0	2	+	+	+	-	-	2.62
KR-XVII	4.32	-5.17	1	2	0	0	0	0	0	-	+	+	+	+	3.49

### 6.6.2. Estudios de acoplamiento molecular sobre PARP1 de las moléculas propuestas

Con el objetivo de evaluar si los compuestos propuestos tienen actividad *in silico* sobre la enzima PARP1, se realizaron estudios de acoplamiento molecular siguiendo las metodologías descritas para los compuestos de la base de datos N015.

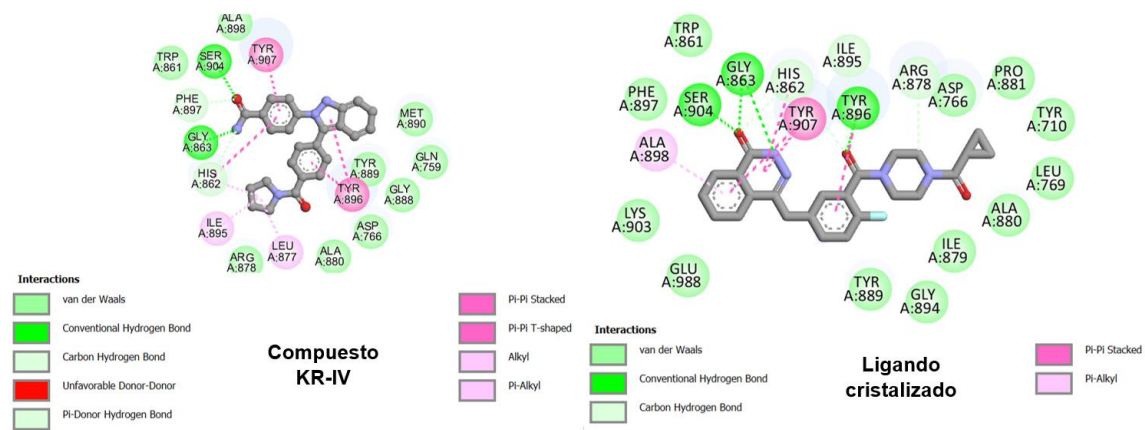
En la Tabla 4 se muestran los resultados para cada molécula y los tres programas utilizados. Se puede observar que la mayoría de los compuestos evaluados obtuvieron mejores puntajes que la base de datos N015, pero sin superar al ligando cristalizado Olaparib. Los compuestos **KR-IV**, **KR-V** y **KR-XI** mostraron los puntajes más altos en los tres programas, siendo los mejores candidatos para continuar estudiando. Cabe destacar, que los tres compuestos poseen alta similitud al tener

los mismos sustituyentes, lo cual nos da una idea de los grupos que pueden mejorar la actividad sobre PARP1.

**Tabla 4.** Resultados de acoplamiento molecular para las moléculas propuestas

Compuesto	AutoDock vina ( $\Delta G = \text{kcal/mol}$ )	AutoDock 4.2 ( $\Delta G = \text{kcal/mol}$ )	GOLD (GOLDScore)
KR-I	-10.6	-9.45	78.1541
KR-II	-7.9	-9.37	81.1841
KR-III	-8.37	-9.77	82.3824
KR-IV	-10.1	-10.96	83.6943
KR-V	-10.15	-11.48	84.7496
KR-VI	-8.7	-9.97	75.9685
KR-VII	-8.9	-9.22	79.3901
KR-VIII	-8.9	-9.11	92.7182
KR-IX	-10	-10.74	80.9153
KR-X	-9.5	-11.44	78.768
KR-XI	-10.48	-10.29	83.4203
KR-XII	-8.79	-9.74	72.1117
KR-XIII	-13.1	-10.84	82.1542
KR-XIV	-8.74	-10.2	81.1541
KR-XV	-8.21	-8.73	73.1543
KR-XVI	-8.47	-8.73	75.1523
KR-XVII	-8.15	-9.81	76.1542

En la Figura 10 se muestran los diagramas de interacción para 09L (olaparib) y el compuesto **KR-IV**, donde se pueden observar similitudes entre ambos compuestos, teniendo cerca del 60% de coincidencias con aminoácidos en el sitio de unión, por lo que se esperaría buena actividad inhibitoria sobre PARP1. Sin embargo, para la dicha molécula se detectó una interacción del tipo no favorable, que no necesariamente afectaría la actividad biológica, pero se debe considerar.



**Figura 10.** Mapa de interacciones ligando-receptor: Olaparib y KR-IV.

El Anexo II se detallan las interacciones proteína-ligando para las moléculas propuestas en comparación con las interacciones observadas para el ligando 09L (olaparib). De acuerdo con los resultados, el compuesto **KR-IV** muestra la mayor coincidencia con el ligando de referencia 09L en el número de interacciones, a pesar de que no comparten el tipo de interacción, continúa compartiendo el sitio de unión con el ligando cristalizado, por lo que se considera que la molécula podría correlacionarse con la actividad inhibitoria sobre PARP 1.



## 7. Objetivos y metas alcanzadas

- Se realizó una revisión bibliográfica sobre los blancos terapéuticos más relevantes asociados a cáncer de mama, y se encontró que la enzima PARP1 es una proteína clave en el ciclo de replicación celular y es considerada uno de los blancos terapéuticos más prometedores en el tratamiento del cáncer.
- Se identificaron 21 compuestos como inhibidores de la proteína PARP1, con buena afinidad sobre el sitio activo, empleando cribado virtual de la base de datos N015.
- Se propusieron 17 nuevas moléculas por hibridación de los derivados encontrados por cribado virtual con núcleo 2,3-difenil-2*H*-indazol y el fármaco olaparib.
- Tres de las moléculas propuestas mostraron la mejor afinidad *in silico* sobre la proteína PARP1.

## **8. Conclusión**

A partir de los datos recopilados del acoplamiento molecular usando tres programas, se demostró que al menos un 10% de los compuestos de la quimioteca N015 muestran afinidad sobre la proteína PARP1.

En cuanto a las moléculas propuestas se encontraron al menos tres candidatos con buenos resultados de acoplamiento molecular sobre PARP1 y el análisis del perfil ADME.

## **9. Perspectivas de la Investigación**

Si bien el presente trabajo se realizó bajo el enfoque computacional con el objetivo de reducir costos y tiempo de investigación, es necesario evaluar in vitro/ in vivo lo reportado para determinar la aptitud de uso de los compuestos analizados.

Por otro lado, respecto a las estructuras propuestas se deberá proponer la ruta sintética más favorable para su obtención y posterior evaluación biológica.

## 10. Referencias

1. Cárdenas-Sánchez, J., Valle-Solís, A., Arce-Salinas, C., Bargalló-Rocha, J., Bautista-Piña, V., Cervantes-Sánchez, G. & Valero-Castillo, V. (2019). Consenso mexicano sobre diagnóstico y tratamiento del cáncer mamario. Octava revisión. Colima 2019. *Gaceta Mexicana de Oncología*, 18(3), 1.
2. Green, A. R., Caracappa, D., Benhasouna, A. A., Alshareeda, A., Nolan, C. C., Macmillan, R. D., & Rakha, E. A. (2015). Biological and clinical significance of PARP1 protein expression in breast cancer. *Breast cancer research and treatment*, 149(2), 353-362.
3. De Soto, J. A., Wang, X., Tominaga, Y., Wang, R. H., Cao, L., Qiao, W., ... & Deng, C. X. (2006). The inhibition and treatment of breast cancer with poly (ADP-ribose) polymerase (PARP-1) inhibitors. *International journal of biological sciences*, 2(4), 179.
4. Kapetanovic, I. M. (2008). Computer-aided drug discovery and development: in silico-chemico-biological approach. *Chemico-biological interactions*, 171(2), 165-176.
5. Macalino, S. J. Y., Gosu, V., Hong, S., & Choi, S. (2015). Role of computer-aided drug design in modern drug discovery. *Archives of pharmacal research*, 38(9), 1686-1701.
6. Sánchez, N. C. (2013). Conociendo y comprendiendo la célula cancerosa: Fisiopatología del cáncer. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 24(4), 553-562.
7. Xie, F., & Wang, S. (2021). Clinical practice guideline of BRCA1/2 testing for patients with breast cancer: Chinese Society of Breast Surgery (CSBrS) practice guideline 2021. *Chinese Medical Journal*, 134(13), 1516.
8. Waks, A. G., & Winer, E. P. (2019). Breast cancer treatment: a review. *Jama*, 321(3), 288-300.
9. Bécares, P. Z. (2018). Tesis doctoral. *Nuevas dianas terapéuticas para el tratamiento del cáncer de mama*, Universidad Complutense de Madrid, España.
10. Topatana, W., Juengpanich, S., Li, S., Cao, J., Hu, J., Lee, J., & Cai, X. (2020). Advances in synthetic lethality for cancer therapy: Cellular mechanism and clinical translation. *Journal of Hematology & Oncology*, 13(1), 1-22.
11. Medina, M. A., Oza, G., Sharma, A., Arriaga, L. G., Hernández, J. M., Rotello, V. M., & Ramirez, J. T. (2020). Triple-negative breast cancer: a review of conventional and advanced therapeutic strategies. *International Journal of environmental research and public health*, 17(6), 2078.

12. León-Morillo, A. (2020). Tesis de Licenciatura, *Inhibidores de poli ADP-ribosa polimerasa (PARP) en el tratamiento del cáncer*. Universidad de Sevilla, España.
13. Papadimitriou, M., Mountzios, G., & Papadimitriou, C. A. (2018). The role of PARP inhibition in triple-negative breast cancer: unraveling the wide spectrum of synthetic lethality. *Cancer treatment reviews*, 67, 34-44.
14. Griguolo, G., Dieci, M. V., Guarneri, V., & Conte, P. (2018). Olaparib for the treatment of breast cancer. *Expert review of anticancer therapy*, 18(6), 519-530.
15. Santana Azevedo, L., Pretto Moraes, F., Morrone Xavier, M., Ozorio Pantoja, E., Villavicencio, B., Aline Finck, J., & Filgueira de Azevedo, W. (2012). Recent progress of molecular docking simulations applied to development of drugs. *Current Bioinformatics*, 7(4), 352-365.
16. Pagadala, N. S., Syed, K., & Tuszynski, J. (2017). Software for molecular docking: a review. *Biophysical reviews*, 9(2), 91-102.
17. Daina, A., Michielin, O., & Zoete, V. (2017). SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific reports*, 7(1), 1-13.
18. Filimonov D.A., Lagunin A.A., Glorizova T.A., Rudik A.V., Druzhilovskii D.S., Pogodin P.V., Poroikov V.V. (2014). Prediction of the biological activity spectra of organic compounds using the PASS online web resource. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, 50 (3), 444-457
19. Pettersen, E. F., Goddard, T. D., Huang, C. C., Couch, G. S., Greenblatt, D. M., Meng, E. C., & Ferrin, T. E. (2004). UCSF Chimera—a visualization system for exploratory research and analysis. *Journal of computational chemistry*, 25(13), 1605-1612.
20. De Groot, B. L., Van Aalten, D. M. F., Scheek, R. M., Amadei, A., Vriend, G., & Berendsen, H. J. C. (1997). Prediction of protein conformational freedom from distance constraints. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 29(2), 240-251.
21. Trott, O., & Olson, A. J. (2010). AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of computational chemistry*, 31(2), 455-461.
22. Dallakyan, S., & Olson, A. J. (2015). Small-molecule library screening by docking with PyRx. In *Chemical biology* (pp. 243-250). Humana Press, New York, NY.
23. Morris, G. M., Huey, R., Lindstrom, W., Sanner, M. F., Belew, R. K., Goodsell, D. S., & Olson, A. J. (2009). AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated

- docking with selective receptor flexibility. *Journal of computational chemistry*, 30(16), 2785-2791.
24. Jones, G., Willett, P., Glen, R. C., Leach, A. R., & Taylor, R. (1997). Development and validation of a genetic algorithm for flexible docking. *Journal of molecular biology*, 267(3), 727-748.
25. Sander, T., Freyss, J., von Korff, M., & Rufener, C. (2015). DataWarrior: an open-source program for chemistry aware data visualization and analysis. *Journal of chemical information and modeling*, 55(2), 460-473.
26. Jejurikar, B. L., & Rohane, S. H. (2021). Drug designing in discovery studio. *Asian Journal of Research in Chemistry*, 14(2), 135-138.
27. Oduselu, G. O., Ajani, O. O., Ajamma, Y. U., Brors, B., & Adebisi, E. (2019). Homology modelling and molecular docking studies of selected substituted Benzo[d]imidazol-1-yl)methyl)benzimidamide Scaffolds on Plasmodium falciparum Adenylosuccinate Lyase Receptor. *Bioinformatics and biology insights*, 13(1), 1-10.
28. Prieto-Martínez, F. D., Arciniega, M., & Medina-Franco, J. L. (2018). Molecular docking: current advances and challenges. *TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 21.
29. Hernández, O. C. (2019). Análisis del desempeño de herramientas de acoplamiento molecular para el estudio de interacciones proteína-péptido. Título de posgrado (Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California).
30. Schmidtke, P. (2011). Tesis Doctoral, *Protein-ligand binding sites. Identification, characterization and interrelations*. Universidad de Barcelona, España.
31. Daina, A., & Zoete, V. (2016). A boiled-egg to predict gastrointestinal absorption and brain penetration of small molecules. *ChemMedChem*, 11(11), 1117.



