



Casa abierta al tiempo

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

**DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD**  
**DEPARTAMENTO DE SISTEMAS BIOLÓGICOS**  
**LICENCIATURA EN QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA**

**INFORME FINAL DEL SERVICIO SOCIAL**

**“Cribado virtual por acoplamiento molecular de la quimioteca N015 sobre el receptor tirosina quinasa HER2”**

**PROYECTO GENÉRICO**

Obtención de materias primas, principios activos, medicamentos y productos biológicos.

**PRESENTA**

Monserrat Jazmín García Segura

Matrícula: 2173065982

**LUGAR DE REALIZACIÓN**

Vía remota vinculado con el Laboratorio N015 Síntesis y reactividad de sustancias bioactivas, Departamento de Sistemas Biológicos

**VoBo. Asesores**

  
Dr. Juan Francisco Palacios Espinosa

  
Dra. Karen Rodríguez Villar

**Enero 2023**

## Resumen

El cáncer es una de las enfermedades mortales de alto impacto a nivel mundial. Esta se caracteriza por una alteración en algunas células del cuerpo que se multiplican sin control y se diseminan a otras partes del cuerpo.

A lo largo de los años, la lucha por proporcionar un tratamiento eficiente ha demandado la búsqueda de nuevas dianas terapéuticas. Recientes estudios han demostrado que el receptor de factor de crecimiento epidérmico humano (HER2), perteneciente a los receptores tirosina quinasa (RTK) está sobre expresado en diferentes clases de tumores que promueven la proliferación celular, progresión tumoral y metástasis. Algunas de las terapias dirigidas contra las RTK, como los inhibidores de receptores de tirosina quinasa codificados por el gen ABL1(ABL), el receptor de factor de crecimiento epidérmico (EGFR) y los receptores para el factor de crecimiento endotelial (VEGFR), han mejorado claramente la supervivencia del paciente con una toxicidad adicional mínima.

En el presente trabajo, se evaluó *in silico* empleando el programa de acoplamiento molecular autodock Vina, una quimioteca (N015) de 208 compuestos con diversas estructuras para obtener información sobre la unión de estas moléculas al receptor HER2. De manera adicional, se propusieron cinco nuevas estructuras por hibridación, y se evaluaron *in silico* sobre el receptor de interés.

De acuerdo con los resultados, se identificaron 19 moléculas (**V5049, V5052, V056, V5058, V5059, V5060, V5061, V5063, V5145, V5147, V5149, V5174, V5182, V5183, V5185, V5187, V5191, V5192, V5193**) como las mejores candidatas con potencial inhibitorio sobre HER2. Además, las cinco moléculas propuestas por hibridación presentaron buenos resultados en el acoplamiento molecular sobre la proteína de estudio, destacando los compuestos **MG001, MG003 y MG005** con los mejores resultados.

**Palabras clave:** *HER2, cáncer, acoplamiento molecular, cribado virtual.*

## **Agradecimientos**

A mis padres, Rosario e Ignacio, que siempre me han brindado un apoyo incondicional en todas y cada una de mis decisiones a lo largo de mi vida, gracias por siempre impulsarme a dar lo mejor de mí, por enseñarme a trabajar duro para lograr mis objetivos, por siempre creer en mí, por acompañarme en cada paso que he dado y por siempre respetar mis decisiones. Gracias, papá por el apoyo que me brindaste, tu partida me ha costado muchísimo, pero sé que siempre estuviste orgulloso de mis logros y solo quiero que sepas que esa frase que algún día me dijiste la tengo muy presente “Haz siempre lo que tu más quieras, pero siempre por el lado correcto” y la sigo aplicando día con día, este logro va directo hasta el cielo para ti, para que veas y te sientas orgulloso de todo lo que he conseguido hasta ahora.

A mis hermanos, Veronica y Carlos, por siempre estar apoyándome en todo momento y de igual manera por el impulso que me han inculcado durante mi carrera universitaria ya que ustedes son un ejemplo por seguir, en toda la extensión de la palabra.

A mi pareja, Javier, gracias por apoyarme y siempre estar a mi lado, gracias por cada palabra de aliento, por motivarme día a día, por aquellas tardes de estudio en las que me brindabas tu apoyo incondicional con aquellas dudas, por siempre alentarme a seguir estudiando para dar lo mejor de mí y por supuesto gracias por todo tu amor incondicional.

Definitivamente nada de lo que he logrado hasta ahora hubiera sido posible sin el apoyo, amor, confianza, dedicación, sacrificio y palabras de cada uno de ustedes que me motivaron día con día. Este trabajo va dedicado con todo mi amor para ustedes, ya que todos ustedes son mi mayor orgullo y lo mejor de mi vida.

A mis asesores, gracias por permitirme formar parte de su equipo de investigación, gracias por transmitirme todos sus conocimientos, consejos y sabiduría.

## INDICE

<b>1. Introducción</b> .....	6
<b>2. Marco Teórico</b> .....	7
2.1. Importancia del cáncer y factores genéticos en su formación.....	7
2.2. Receptores tirosina-quinasa como blanco molecular.....	7
2.3. HER2 .....	9
<b>2.3.1. Inhibidores de HER2</b> .....	10
2.4. Diseño de fármacos asistido por computadora (DiFAC) .....	10
<b>2.4.1. Acoplamiento molecular</b> .....	11
<b>2.4.2. Cribado virtual</b> .....	12
<b>3. Planteamiento del problema</b> .....	13
<b>4. Objetivos</b> .....	13
4.1. General .....	13
4.2. Específicos.....	13
<b>5. Metodología</b> .....	14
5.1. Elección del blanco molecular .....	14
5.2. Preparación del blanco molecular y ligandos utilizados para el acoplamiento molecular .....	14
5.3. Validación del método de acoplamiento molecular .....	15
5.4. Acoplamiento molecular sobre HER2 .....	15
5.5. Selección de compuestos por cribado virtual .....	15
5.6. Diseño y evaluación <i>in silico</i> de nuevos inhibidores de HER2 .....	15
5.7. Análisis de propiedades de interés farmacéutico.....	16
<b>6. Resultados y discusión</b> .....	17
6.1. Elección del blanco molecular .....	17
6.2. Preparación del blanco molecular y ligandos utilizados para el acoplamiento molecular .....	18
6.3. Validación del método de acoplamiento molecular .....	18
6.4. Cribado virtual por acoplamiento molecular.....	19
6.5. Diseño de nuevos inhibidores de HER2 .....	21
6.6. Estudios de acoplamiento molecular sobre HER2 de las moléculas propuestas MG001–005.....	21
6.7. Análisis de propiedades de interés farmacéutico.....	23
<b>7. Objetivos y metas alcanzadas</b> .....	25
<b>8. Conclusión</b> .....	25
<b>9. Perspectiva de la investigación</b> .....	25
<b>10. Referencias</b> .....	26
<b>11. Anexos</b> .....	28

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Complejos HER2 con distintos ligandos .....	17
<b>Tabla 2.</b> Resultados de la validación del método .....	19
<b>Tabla 3.</b> Estudio de reproducibilidad para el ligando N78.....	19
<b>Tabla 4.</b> Compuestos seleccionados por cribado virtual y su energía de unión.....	20
<b>Tabla 5.</b> Valores de energía de unión de compuestos propuestos .....	21
<b>Tabla 6.</b> Predicción del perfil ADME para los compuestos propuestos.....	23

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Clasificación de los RTK por familia.....	8
<b>Figura 2.</b> Representación de los receptores HER2 en una célula normal y una célula tumoral. ....	9
<b>Figura 3.</b> Líneas de investigación representativas del DiFAC. ....	11
<b>Figura 4.</b> Estructura del complejo HER1-HER2 y el ligando N78. ....	17
<b>Figura 5.</b> Gráfico de Ramachandra para HER2 (6TG0).. ....	18
<b>Figura 6.</b> Estructura de los compuestos seleccionados por cribado virtual. ....	20
<b>Figura 7.</b> Estructura de los compuestos propuestos por hibridación. ....	21
<b>Figura 8.</b> Diagrama de interacciones ligando-proteína para <b>MG001-005</b> . ....	22
<b>Figura 9.</b> Diagrama de huevo hervido para los compuestos <b>MG001-004</b> . ....	24

## 1. Introducción

El diseño de fármacos asistido por computadora (DiFAC) consiste en aplicar algún procedimiento realizado por una computadora para relacionar la actividad de un compuesto con su estructura química, o bien, tratar de predecir su actividad según su interacción con una macromolécula de interés farmacológico.<sup>1</sup>

Teniendo en cuenta que el cáncer constituye un problema de salud a nivel mundial, debido a que es una de las principales causas de muerte, la selección de nuevos blancos para la terapia de cáncer es la tendencia principal de múltiples investigaciones. El cáncer es una enfermedad multifactorial que provoca que algunas células del cuerpo se multipliquen sin control y se diseminen a otras partes del cuerpo. Los cambios en los genes que controlan el funcionamiento de las células, en especial como se forman y multiplican, están asociados con el desarrollo de cáncer.<sup>2</sup>

Algunos blancos terapéuticos importantes en esta enfermedad son los receptores tirosina quinasas (RTK), debido a que estos receptores se sobreexpresan en diferentes tipos de cáncer.<sup>3</sup> Los RTK regulan los procesos celulares normales, incluidos la supervivencia, el crecimiento, la diferenciación, la adhesión y la motilidad. No obstante, se ha demostrado que la sobreexpresión de estos receptores correlaciona con un peor pronóstico, mayor índice de proliferación, mayor capacidad invasiva y reducción de sobrevida en los pacientes con cáncer.<sup>4</sup>

El cáncer es un proceso complejo que involucra varios pasos, sin embargo, los ensayos clínicos han demostrado que el bloqueo selectivo de la actividad de un solo RTK activado dominante puede afectar el crecimiento del tumor. Dentro de los RTK se encuentra HER2, el cual es el receptor preferido para la dimerización con otros miembros de la familia del EGFR (Receptor del Factor de Crecimiento Epidérmico), lo que le confiere al complejo heterodimérico mayor estabilidad y potencia en la señalización; ejemplo de ello es la heterodimerización con HER1, la cual reduce la tasa de endocitosis y degradación, y promueven su reciclaje hacia la superficie celular.<sup>4</sup>

El receptor HER2 no tiene un ligando natural conocido, sin embargo, se sabe de algunos ligandos de los EGFR homólogos, que pueden ser usados sobre HER2 con buenos resultados. En este proyecto se propone a HER2 como blanco molecular obteniendo información a partir del análisis de una base de datos de moléculas (Quimioteca) del laboratorio N015, donde se busca identificar nuevos inhibidores empleando métodos computacionales.<sup>5</sup>

## **2. Marco Teórico**

### **2.1. Importancia del cáncer y factores genéticos en su formación**

El cáncer es una de las causas principales de muerte en el mundo, tan solo en 2018 se registraron 9.5 millones de muertes por cáncer y 18.1 millones de casos nuevos a nivel mundial. Este se describe como una enfermedad multifactorial, en la cual algunas células del cuerpo se multiplican sin control, pudiendo diseminarse a otras partes del cuerpo causando metástasis.<sup>2</sup>

El cáncer puede considerarse una enfermedad genética, dado que todos los cánceres estudiados presentan alteraciones y rearrreglos en el ADN, así como cambios en la expresión y actividad de genes que regulan la proliferación y diferenciación celular.<sup>2</sup> Los cambios en los genes que controlan el funcionamiento de las células, en especial, cómo se forman y multiplican, causan el cáncer. Los cambios genéticos se producen principalmente por:

- Errores que ocurren cuando las células se multiplican.
- Daños en el ADN por agentes externos presentes en el medio ambiente, como el humo del tabaco o los rayos ultravioleta del sol.
- Por herencia de padres a hijos.<sup>6</sup>

Actualmente, existen más de 100 tipos de cáncer, los cuales se nombran según el órgano o tejido afectado. Sin embargo, todos ellos presentan alteraciones y rearrreglos genéticos que se presentan en las células cancerosas, tales como pérdidas o deleciones de material genético, mutaciones puntuales, sustituciones, inserciones pequeñas, amplificaciones y cambios epigenéticos como la metilación.<sup>7</sup>

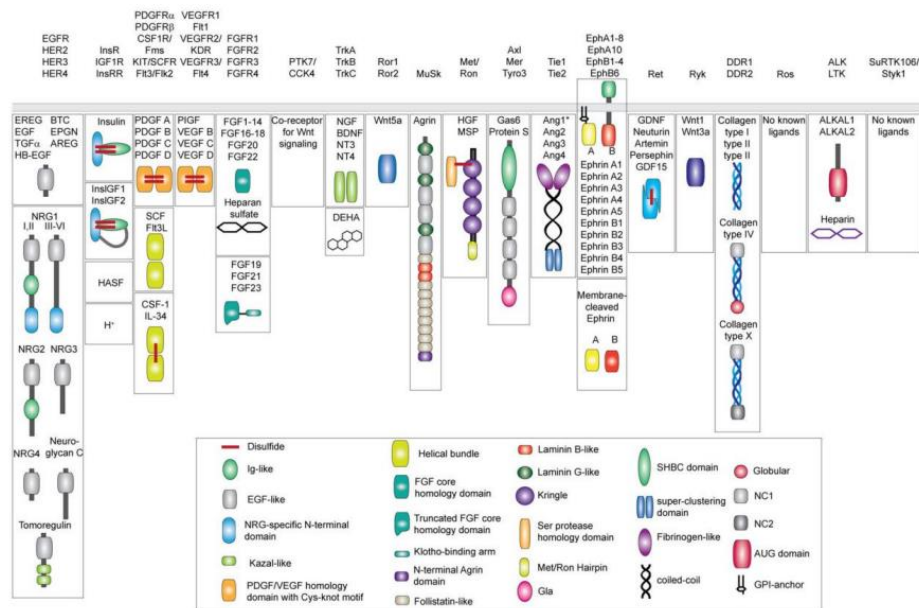
En países de América Latina considerados en vías de desarrollo, el cáncer representa el 16.5% del total de muertes, de las cuales el 49% son debidas a cáncer de próstata, mama, cuello uterino, pulmón, colon, vejiga, recto y estómago, siendo estos los tipos de cáncer más frecuentes en su población. No obstante, el cáncer de mama es de particular interés por su alta tasa de mortalidad, así como las distintas variaciones en la enfermedad que dificultan su tratamiento.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha promovido el desarrollo de programas nacionales de control del cáncer con el objetivo de reducir la incidencia, la morbilidad y la mortalidad del cáncer, así como mejorar la calidad de los pacientes con cáncer por medio de la implementación sistemática de intervenciones basadas en evidencia en la prevención, diagnóstico temprano, tratamiento y cuidados paliativos.<sup>8</sup>

### **2.2. Receptores tirosina-quinasa como blanco molecular**

Los receptores tirosina quinasa (RTK) son proteínas transmembranales que transducen señales desde el entorno extracelular hasta el citoplasma y al núcleo. De esta manera, los RTK regulan los procesos celulares normales, incluidos la supervivencia, crecimiento, diferenciación, adhesión y la motilidad.<sup>3</sup> Actualmente, se conocen 58 diferentes RTK divididos en 19 familias por identidad de secuencia de

aminoácidos dentro del dominio quinasa y similitudes estructurales dentro de sus regiones extracelulares (Figura 1).<sup>4</sup>



**Figura 1.** Clasificación de los RTK por familia.

Los receptores RTK son vitales para el control celular, por ello, una señalización aberrante o continua del receptor puede conducir a numerosos estados patológicos. Así como la sobreexpresión y/o mutación es suficiente para transformar las células y desarrollar algún tipo de cáncer.<sup>9</sup> Principalmente, las subfamilias como son los receptores para el factor de crecimiento epidérmico (EGFR/ErbB), el receptor de insulina (IGFR), receptor para el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFR), receptor para el factor de crecimiento de fibroblastos (FGFR), receptor para el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGFR) y el factor de crecimiento de hepatocitos (HGF) están fuertemente asociadas con esta enfermedad.<sup>4</sup>

Los RTK se consideran el punto de partida para muchas vías de señalización celular mediante el reclutamiento de efectores enzimáticos (PLCγ, PI3K, Src), ya sea directamente en su dominio intracitoplasmático, o indirectamente a través de proteínas adaptadoras (Grb2, Shc), formando complejos capaces de activar enzimas intracelulares (Ras). Las vías de señalización descendente de RTK son principalmente MAPK, PI3K, Src y otras vías que involucran PLCγ, JAK / STAT. Mientras que las primeras etapas de la transducción de señales después de la activación de RTK se basan principalmente en la fosforilación de tirosina, la propagación de señales asocia varias fosforilaciones en residuos de serina / treonina en la mayoría de los procesos celulares, así como otros procesos como glicosilación o acetilación.<sup>9</sup>

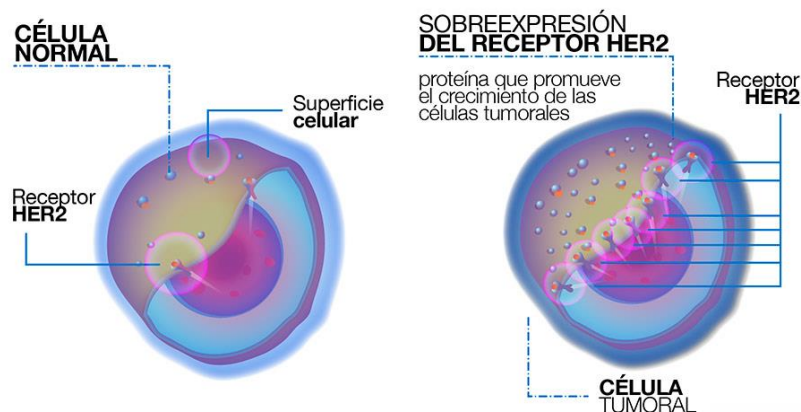
Por otro lado, el desarrollo de inhibidores de los RTK ha demostrado que el bloqueo de la actividad de un solo RTK activado dominante puede afectar el crecimiento del tumor de manera importante; razón por la cual ha incrementado el interés por desarrollar esta nueva clase de fármacos selectivos.<sup>4</sup> Algunos de los primeros RTK



considerados como blancos moleculares para el desarrollo de inhibidores específicos fueron las proteínas quinasas C (PKC), Bcr-Abl, EGFR (HER1) y HER2.<sup>10,11</sup> Este último, pertenece a la subfamilia EGFR y es el receptor preferido para la dimerización con otros miembros de la familia, dada su mayor estabilidad y potencia en la señalización, haciéndolo un blanco prometedor.<sup>4</sup>

### 2.3. HER2

El receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano (HER2) es un miembro de la subfamilia EGRF, codificado por el protooncogén ERBB2 en el cromosoma 17, involucrado en múltiples vías de señalización, incluida la división celular. Si bien los factores que causan la alteración de este gen no son bien conocidos, la sobreexpresión de este receptor en la superficie de sus membranas plasmáticas produce un incremento en la división y crecimiento celular.<sup>6,12</sup> Esto se debe a que el receptor HER2 actúa en la superficie de las células recibiendo señales que estimulan el crecimiento y su multiplicación, pero en las células cancerosas con alta expresión de receptores HER2, estas reciben demasiadas señales de crecimiento causando que las células tumorales crezcan y se dividan sin control (Figura 2).<sup>13</sup>



**Figura 2.** Representación de los receptores HER2 en una célula normal y una célula tumoral.

Esta condición de sobreexpresión se ha encontrado en distintos tipos de cáncer como vejiga, vesícula biliar, mama, cuello uterino, endometrial, ovario, testículo, colorrectal, esofágico, gástrico, hígado, pulmón, páncreas, glándulas salivales y otros tumores sólidos.<sup>13</sup> Además, el oncogen HER2/neu favorece la producción de la proteína del mismo nombre, la cual constituye un factor de pronóstico asociado con una mayor agresividad tumoral, mayor tasa de recaídas y peor supervivencia.<sup>10,13</sup> Estos tumores se denominan HER2 positivos.<sup>6</sup>

De manera particular, el cáncer de mama se clasifica en 3 subtipos según la presencia o ausencia de marcadores moleculares: receptores de estrógeno, receptores de progesterona y el HER2 positivo (sobreexpresado).<sup>6</sup> Este último representa del 25 a 30% de los casos y distintos estudios han demostrado que los carcinomas de mama HER2 positivo son más agresivos; además de estar asociados con un incremento en el riesgo de metástasis.<sup>5</sup> Por ello, HER2 es un importante biomarcador para el

diagnóstico y el análisis del estadio de la enfermedad, que puede ser identificado mediante técnicas de inmunohistoquímica (IHC) y de hibridación con fluorescencia *in situ* (FISH).<sup>5,6</sup>

### **2.3.1. Inhibidores de HER2**

HER2 no tiene un ligando natural identificado como el resto de los miembros de la familia al tratarse de un correceptor.<sup>13</sup> Sin embargo, se conocen ligandos para su receptor homólogo EGFR o HER1 que han servido como inspiración para el desarrollo de inhibidores dirigidos; algunos de ellos son el Factor de crecimiento epidérmico (EGF), Factor de crecimiento tumoral alfa (TGF $\alpha$ ), Anfiregulina (AR), Betacelulina (BTC), Epiregulina (EPR), Factor de crecimiento ligado a heparina (HB-EGF).<sup>12,14</sup>

Actualmente, las terapias contra HER2 (también llamadas inhibidores de HER2 o terapias dirigidas a HER2) son una clase de medicamentos que se usan para tratar todos los estadios del cáncer que es positivo para HER2. Los anticuerpos monoclonales dirigidos contra receptores de superficie HER2/neu han sido algunos de los más exitosos, tal es el caso de Trastuzumab uno de los fármacos más recientemente aprobado.<sup>6</sup> Estos inhibidores actúan impidiendo que los receptores reciban señales de crecimiento, pudiendo demorar o detener el crecimiento del tumor. Sin embargo, estos fármacos solo actúan sobre el cáncer que es positivo para HER2.<sup>6</sup>

Algunas de las terapias dirigidas contra los RTK como los inhibidores de ABL, EGFR y VEGFR, han mejorado claramente la supervivencia del paciente con una toxicidad adicional mínima. Muchos postulan que esta fase de desarrollo de fármacos inhibidores de RTK está llegando a su fin. Pero a medida que mejora la capacidad para tipificar molecularmente tumores humanos y descubrir tirosina quinasas adicionales como dianas en subconjuntos de tumores, creemos que este grupo de blancos moleculares y sus inhibidores continuarán complementando la terapia citotóxica y son promisorias para el desarrollo de nuevos fármacos antitumorales.<sup>13</sup>

### **2.4. Diseño de fármacos asistido por computadora (DiFAC)**

El diseño de fármacos asistido por computadora (DiFAC) consiste en aplicar algún procedimiento realizado por una computadora para relacionar la actividad de un compuesto con su estructura química.<sup>15</sup> El DiFAC contiene varias líneas de investigación descritas en la Figura 3 y tiene como objetivos principales:

- Descubrir moléculas activas
- Optimizar moléculas activas ya conocidas
- Seleccionar de un grupo de moléculas, a los candidatos que tengan mayor o menor probabilidad de convertirse en fármacos exitosos.<sup>1</sup>



**Figura 3.** Líneas de investigación representativas del DiFAC.

Muchos fármacos ejercen su acción debido a su interacción con una macromolécula presente en el organismo. Tomando este principio, las estrategias del DiFAC se dividen en dos partes principales.

- a) *Diseño basado en la estructura del ligando*: Es aquel en el que los métodos que se agrupan en esta área se centran en el estudio de la estructura química de la molécula con actividad biológica.
- b) *Diseño basado en la estructura del receptor*: Los métodos que corresponden a esta estrategia consideran la estructura tridimensional de la macromolécula o biomolécula con la que interactúa el ligando.

La elección del método computacional dependerá en primera instancia, si se conoce o no la estructura del ligando y del receptor. Cuando se conocen ambas se puede hacer uso de ambas estrategias. Los métodos computacionales son una gran herramienta para calcular propiedades moleculares o simular resultados experimentales, siendo el acoplamiento molecular uno de los más empleado en el desarrollo de fármacos.<sup>15</sup>

#### 2.4.1. Acoplamiento molecular

El acoplamiento molecular automatizado (o *docking* en inglés) es una simulación computacional cuyo objetivo se compone de dos pasos: predecir la conformación de un ligando en un complejo receptor-ligando y evaluar la afinidad de unión.<sup>1</sup> También se puede definir como un proceso de simulación en donde se estima la posición de un ligando en un sitio de unión dentro del blanco molecular. En este proceso, el receptor es usualmente una proteína o ácido nucleico (ADN o ARN) y el ligando es una molécula pequeña, aunque también se puede buscar la posición y conformación más favorable de dos macromoléculas.<sup>16</sup>

El acoplamiento molecular automatizado tiene dos componentes:

- a) *Docking* o proceso de búsqueda de la conformación y orientación de las moléculas
- b) *Scoring*, que consiste en asignar un valor o puntaje que mida la interacción entre las dos estructuras.<sup>1</sup>

Esta metodología tiene distintas aplicaciones, siendo el análisis de grandes cantidades de moléculas para identificar compuestos potencialmente activos “*hits*” una de las más empleadas al limitar el número de moléculas que deberán sintetizarse y evaluarse *in vitro*, a esto se le denomina cribado virtual.<sup>15</sup>

La importancia de analizar bases de datos moleculares (quimiotecas) es debido a su gran potencial, ya que contienen información suficiente para realizar el cribado virtual, quimiogenómica, análisis estructura-actividad, reposicionamientos de fármacos, entre otros. Además, las bases de datos son de vital importancia para encontrar compuestos que tengan propiedades farmacéuticas atractivas, incluyendo baja toxicidad, solubilidad acuosa adecuada para administrarse vía oral, entre otras propiedades farmacocinéticas.<sup>15</sup>

#### **2.4.2. Cribado virtual**

En la investigación Química Farmacéutica es crucial acelerar el descubrimiento y desarrollo de compuestos activos. Sin embargo, procesar grandes conjuntos de datos implica un reto puesto que en la actualidad se encuentran disponibles un gran número de bases de datos de proteínas y moléculas pequeñas (quimiotecas) que contienen información estructural e incluso de actividad biológica. Para este fin el DIFAC ha implementado exitosamente distintas estrategias para facilitar la identificación de nuevos compuestos bioactivos, la predicción de la toxicidad de fármacos y su potencial actividad sobre enfermedades nuevas.<sup>17</sup>

Las herramientas de quimioinformática y los métodos de cribado virtual (CV) permiten analizar una gran cantidad de información y probar *in silico* todas las hipótesis necesarias antes de realizar los ensayos clínicos y con ello seleccionar un número reducido de moléculas que pueden ser llevados a evaluación biológica, lo cual permite una disminución considerable de tiempo y recursos en el laboratorio.<sup>15</sup> De manera particular, la quimioinformática se emplea para organizar, extraer, visualizar y analizar cuantitativamente la diversidad química de extensas bases de datos, así como la cobertura del espacio químico.<sup>15,18</sup> Por su parte, el cribado virtual conjunta varios métodos computacionales para la selección de los candidatos de fármacos, a través de filtros que se aplican de forma secuencial, en función del nivel de requerimientos computacionales y la complejidad de la información.<sup>19</sup>

El CV permite seleccionar de un gran número de moléculas los candidatos más prometedores para un blanco molecular específico, a esto se le denomina cribado virtual basado en el receptor. Este último, se auxilia del acoplamiento molecular para realizar un análisis sobre el sitio de unión y determinar la afinidad de unión entre el blanco molecular con su ligante. Generalmente, la afinidad de unión se mide y se informa como el equilibrio constante de disociación que se utiliza para calcular y evaluar el orden de la solidez de las interacciones.<sup>17</sup>

### **3. Planteamiento del problema**

El cáncer es una de las principales causas de muerte a nivel mundial, todos los cánceres desarrollan alteraciones y rearrreglos en el ADN, así como cambios en la expresión y actividad de genes que regulan la proliferación y diferenciación celular. De manera particular, la sobreexpresión de receptores RTK como HER2, está fuertemente asociado al desarrollo de cáncer. Por ello, es importante continuar con el desarrollo de inhibidores de HER2, que puedan actuar como tratamiento contra el cáncer, particularmente para aquellos tipos de cáncer HER2 positivos, que se encuentran entre los más agresivos y menor tasa de recuperación.

El presente proyecto tuvo como objetivo identificar compuestos potencialmente activos sobre el RTK HER2, mediante el cribado virtual basado en estructura de ligando de la base de datos N015, así como el diseño de nuevos inhibidores de HER2 por hibridación de compuestos selectos por cribado virtual. Se elige el DiFAC para realizar el cribado virtual debido a que son un conjunto de diversas aplicaciones, ya que se abarca desde el modelo molecular, quimio informática, química teórica y química computacional, convirtiendo a DiFAC en una herramienta para la búsqueda de compuestos bioactivos bastante completa.

### **4. Objetivos**

#### **4.1. General**

Identificar compuestos potencialmente activos sobre el RTK HER2, mediante el cribado virtual de la quimioteca N015.

#### **4.2. Específicos**

- Realizar una revisión bibliográfica sobre los blancos moleculares más relevantes relacionados con el cáncer.
- Preparar el blanco molecular y los ligantes para los estudios de acoplamiento molecular usando diferentes programas computacionales.
- Realizar estudios de acoplamiento molecular sobre el blanco molecular HER2, empleando Autodock Vina.
- Identificar y seleccionar compuestos potencialmente activos sobre HER2.
- Proponer una serie de estructuras novedosas en busca de mejorar el acoplamiento encontrado para los compuestos de la base de datos N015.
- Determinar el perfil ADME de los compuestos seleccionados por cribado virtual y las moléculas propuestas, empleando SwissADME.

## 5. Metodología

### 5.1. Elección del blanco molecular

La revisión bibliográfica de blancos moleculares asociados con cáncer se centró en aquellos de mayor relevancia y reportes de alteración y/o mutación del ADN, enfocándose en la familia de Receptores Tirosina Quinasa (RTK). La información fue consultada en diversos artículos científicos usando el buscador *PubMed*.

Adicionalmente, se realizó una búsqueda de los ligandos naturales y sintéticos reportados para el blanco molecular seleccionado, con la finalidad de identificar el o los sitios activos, así como las características estructurales de los ligandos.

Finalmente, se consultó la disponibilidad del blanco seleccionado dentro de la base de datos *Protein Data Bank*.<sup>20</sup> La elección de la estructura 3D se basó en la resolución (< 3.0 Å), la especie de origen y la información de interacciones importantes dentro del sitio activo.

### 5.2. Preparación del blanco molecular y ligandos utilizados para el acoplamiento molecular

La estructura 3D del receptor HER2 se recuperó de *Protein Data Bank* (PDB: 6TG0)<sup>21</sup> como archivo \*.pdb. Esta se sometió a minimización de la energía (optimización de la estructura) utilizando la herramienta "*structure minimization*" y el campo de fuerza AMBERff14SB, dentro del programa *Chimera*.<sup>22</sup> Durante la minimización se eliminaron iones, moléculas de agua y el ligando cristalizado (N78), así como la adición de hidrógenos polares y cargas *Gasteiger*. Adicionalmente, el complejo HER2-N78 (6TG0) se minimizó en la plataforma de *Yasara*,<sup>23</sup> bajo las condiciones estándar de la plataforma; posteriormente la estructura se limpió en el programa *Pymol*<sup>24</sup> (eliminación de iones, moléculas de agua y el ligando cristalizado).

La evaluación y selección de la proteína minimizada se realizó a partir del gráfico de Ramachandran, generado en la plataforma *Ramachandra plot*.<sup>25</sup> 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 el programa *ChemDraw*, a partir de los códigos SMILES, y se minimizaron dentro del programa *Avogadro* utilizando el campo de fuerza MMFF94 y el algoritmo de Gradientes conjugados.<sup>26</sup> Los archivos se guardaron en formato \*.pdb. Por último, la proteína y ligandos fueron convertidos a archivos con extensión \*.pbdqt en el programa *Pyrx*<sup>27</sup> 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 N78. Para ello, se realizó el acoplamiento molecular del ligando N78 sobre la proteína HER2 variando los valores de exhaustividad: 8, 50, 100, 250 y 500 ciclos, empleando el algoritmo de búsqueda por gradientes y una caja de búsqueda con dimensiones de 16.0 Å y las coordenadas de la caja: X= -16.421, Y= 10.987, Z=-6.233, lo anterior empleando *Autodock Vina*<sup>28</sup> ejecutado desde *PyRx*.

Los archivos de salida fueron analizados en *AutoDockTools*<sup>29</sup> para identificar los distintos modos de unión encontrados. Los modos de unión con mejor energía de unión de cada corrida se emplearon para el cálculo de RMSD en el mismo programa. Se seleccionó el mejor resultado con RMSD < 2 Å y con ello se determinó el número de los ciclos con los que se trabajaría posteriormente.

### 5.4. Acoplamiento molecular sobre HER2

Una vez seleccionados los parámetros del estudio, los 208 compuestos de la quimioteca se sometieron al acoplamiento molecular sobre la cadena B de la proteína usando *Autodock Vina*, empleando las coordenadas y dimensiones de la caja descritas previamente (sección 5.3) y el número de corridas (exhaustivos) se estableció en 100. Posteriormente, se recobraron los modos de unión con mejor afinidad de unión para cada compuesto.

### 5.5. Selección de compuestos por cribado virtual

A partir de los resultados del acoplamiento molecular de los 208 compuestos, se construyó una tabla con los valores de energía de unión ( $\Delta G$ ) resultantes para cada uno de los compuestos. Tomando estos datos, se seleccionaron aquellas moléculas con valores iguales o mayores al obtenido para el ligante cristalizado N78 (-12 kcal/mol), es decir se seleccionaron aquellos compuestos que dieron un resultado de afinidad  $\geq 10$  kcal/mol.

### 5.6. Diseño y evaluación *in silico* de nuevos inhibidores de HER2

A partir de las estructuras de los compuestos identificados por cribado virtual y el ligante cristalizado N78, se propusieron cinco nuevos compuestos por hibridación **MG001–MG005**. Los compuestos combinaron características como los núcleos base y los grupos funcionales de los compuestos seleccionados y el ligando cristalizado N78. Los compuestos propuestos fueron evaluados por acoplamiento molecular sobre la proteína de interés, bajo las mismas condiciones descritas anteriormente.

Finalmente, se analizaron los modos de unión y sus energías de unión. Así mismo se generaron los diagramas de interacciones ligando-proteína en 2D dentro del programa

*Discovery Studio*<sup>30</sup> para los compuestos propuestos y el ligando cristalizado N78. El análisis de las interacciones ligando-proteína consistió en evaluar la presencia o ausencia de los diferentes tipos interacciones entre el ligando y aminoácidos específicos del sitio de unión de la proteína, lo cual resulta útil para evaluar la afinidad del ligante sobre dicho sitio activo.

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

El análisis de las propiedades de interés farmacéutico se realizó a los cinco compuestos propuestos mediante la plataforma *SwissADME*,<sup>31</sup> a partir de los códigos SMILES generados en el programa *ChemDraw*. El análisis consistió en determinar descriptores moleculares de interés farmacéutico calculados fueron: lipofilia, solubilidad, criterios químico-farmacéuticos y farmacocinéticos como absorción, permeabilidad, interacción con isoformas del citocromo P450, entre otros.



## 6. Resultados y discusión

### 6.1. Elección del blanco molecular

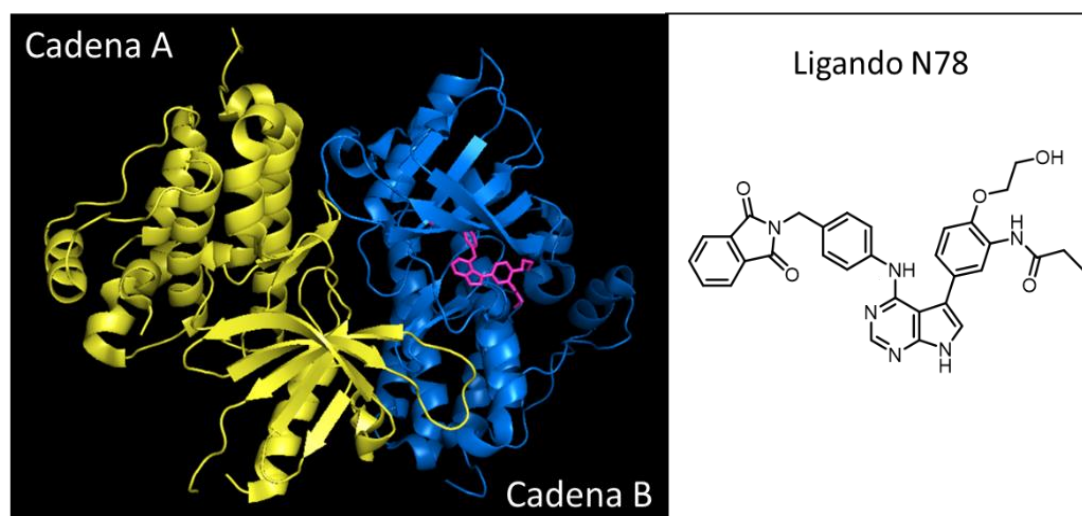
Con base en la revisión bibliográfica de las dianas terapéuticas para el tratamiento de cáncer, se identificó al receptor HER2 (miembro de los RTK) como uno de los blancos más relevantes y estudiados en los últimos años. Esto debido a que HER2 es clave para el crecimiento y la división normal de las células, por lo que su expresión anormal está vinculada a procesos cancerosos. Además, se ha convertido en un importante marcador y diana en el tratamiento oncológico, especialmente del cáncer de mama.

Adicionalmente, se realizó la búsqueda de los ligandos que se unen a HER2 descritos en la literatura; sin embargo, no se encontraron reportes de ligandos naturales específicos. De acuerdo con lo anterior, se tomó la decisión de buscar información acerca de los ligandos de su proteína homóloga HER1 (EFGR), con la finalidad de conocer los distintos sitios de unión y las estructuras de los ligantes de HER1. Así como reportes de complejos HER2 con ligandos sintéticos descritos en la base de datos *Protein Data Bank*. Los resultados más relevantes se describen en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Complejos HER2 con distintos ligandos

ID PDB	Resolución	Método de obtención	Ligante (Núcleo)
3POZ	1.50 Å	Difracción de Rayos X	03P
4ICZ	1.90 Å	Difracción de Rayos X	PTR
6TG0	1.50 Å	Difracción de Rayos X	N78
6TG1	1.60 Å	Difracción de Rayos X	N82

De manera general, todos los complejos analizados poseen buena resolución y fueron obtenidos por la misma técnica. Se decidió seleccionar el complejo 6TG0, debido a que este complejo representa al heterodímero de HER1 (cadena A, amarilla) y HER2 (cadena B, azul) con un ligando selectivo sobre HER2 (N78), cuya estructura se muestra en la Figura 4. Por lo anterior, se decidió usar solo la cadena B para los posteriores estudios.

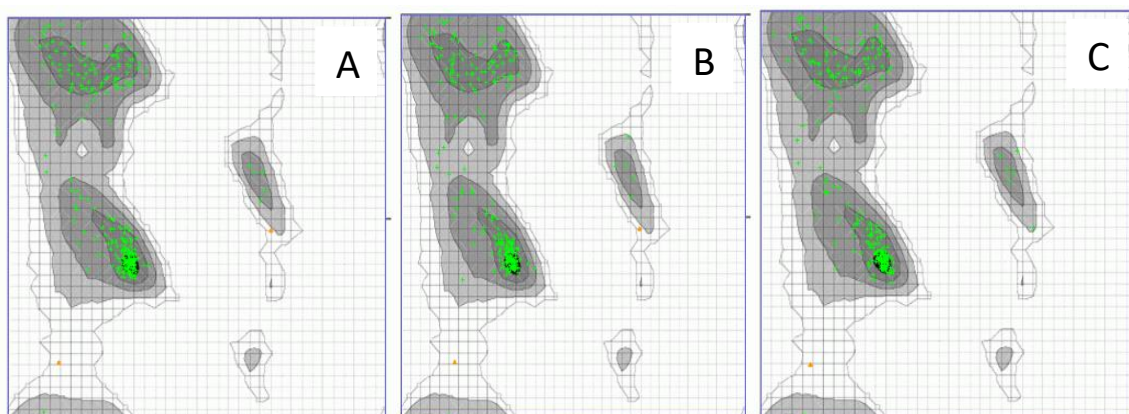


**Figura 4.** Estructura del complejo HER1-HER2 y el ligando N78.

## 6.2. Preparación del blanco molecular y ligandos utilizados para el acoplamiento molecular

La proteína fue optimizada en los programas *Chimera* y en el servidor *Yasara*. Las estructuras minimizadas y sin procesar (cruda) se compararon mediante los gráficos de Ramachandran. 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.

En la Figura 5 se muestran los gráficos de Ramachandran resultantes para cada una de las proteínas, donde se observó que las proteínas minimizadas tanto en *YASARA* como *Chimera* obtuvieron resultados similares, teniendo un 99.174% de residuos en regiones permitidas (verde) y 0.826% en regiones medianamente permitidas (naranja). De acuerdo con esta evaluación, se seleccionó la proteína generada con el programa *YASARA* para los posteriores estudios, al presentar las mejores estadísticas y la mejor estructura tridimensional.



**Figura 5.** Gráfico de Ramachandra para HER2 (6TG0). (A) Proteína minimizada con Chimera (B) Proteína minimizada con YASARA. (C) Proteína cruda. Rojo: aa en zonas prohibidas; Naranja: aa en zonas medianamente permitidas; Verde: aa en zonas permitidas.

## 6.3. Validación del método de acoplamiento molecular

La validación del método de acoplamiento molecular consiste en comprobar si las condiciones de estudio propuestas son adecuadas para reproducir un modo de unión semejante al observado para el complejo 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.

En la Tabla 2, se muestran los resultados de energía de unión obtenidos para el ligando N78 variando el número de corridas (exhaustivos). Se observó que a partir de los 8 ciclos el valor de 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 100 corridas 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; además en este se obtuvo el valor de RMSD más bajo (RMSD = 0.931). Por otro lado, la energía de unión encontrada para el ligando N78 (12.0 kcal/mol) se mantuvo constante en todos los casos y este valor se utilizó como referencia para evaluar a la quimioteca.

**Tabla 2.** Resultados de la validación del método

<b>Exhaustivos</b>	<b>RMSD</b>	<b>Energía de unión (kcal/mol)</b>
<b>8</b>	1.874	-11.9
<b>50</b>	1.342	-12.0
<b>100</b>	0.931	-12.0
<b>250</b>	0.935	-12.0
<b>500</b>	1.004	-12.0

#### 6.4. Cribado virtual por acoplamiento molecular

Los 208 compuestos de la quimioteca N015 fueron evaluados en *Autodock Vina*, bajo las condiciones de trabajo descritas anteriormente. Los modos de unión de cada molécula fueron analizados en *AutoDock Tools*, y se recuperaron aquellos con las mejores energías de unión, definidas como  $\Delta G$ . Cabe mencionar que para el ligando N78 se evaluó en cuatro ocasiones, con la finalidad de evaluar la reproducibilidad del estudio, los valores de RMSD para se muestran en la Tabla 3.

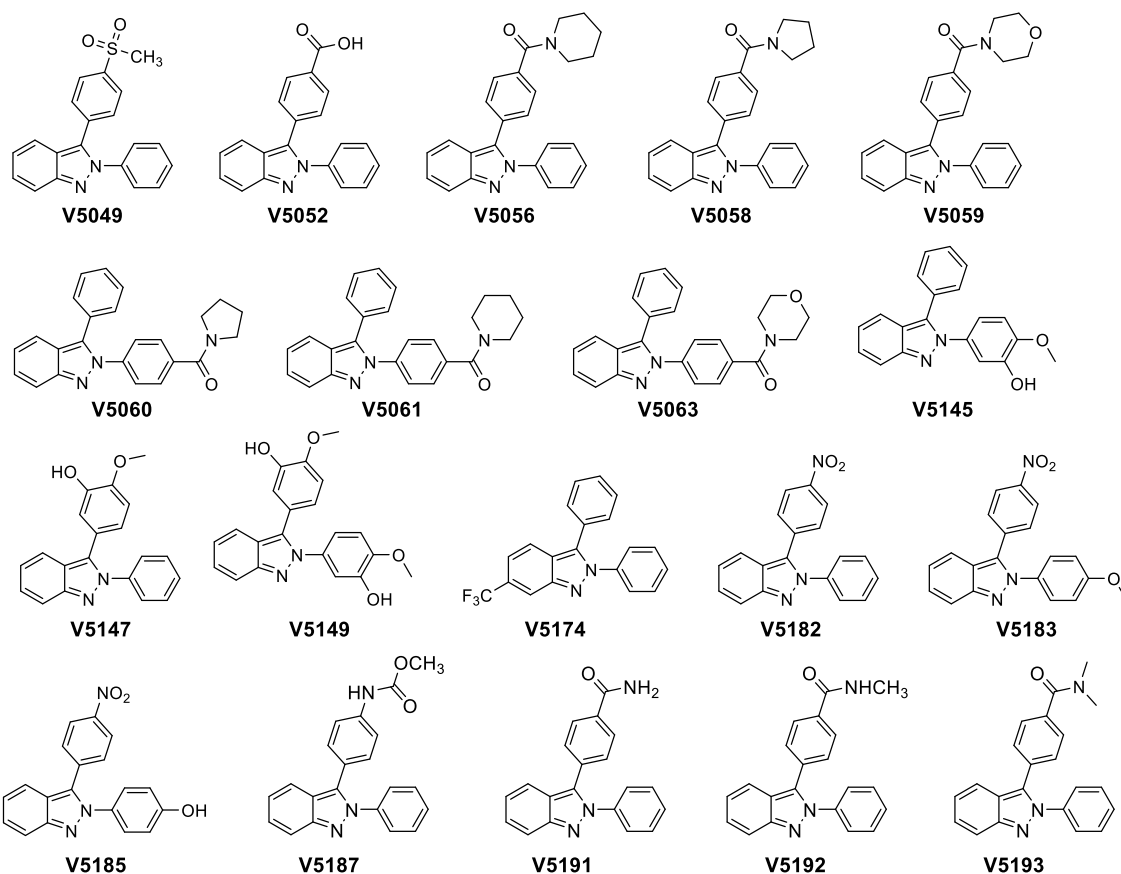
**Tabla 3.** Estudio de reproducibilidad para el ligando N78

<b>Evaluación</b>	<b>Energía de unión (kcal/mol)</b>	<b>RMSD</b>
Evaluación 1	-11.9	1.231
Evaluación 2	-12.0	1.180
Evaluación 3	-12.0	1.261
Evaluación 4	-12.0	1.257
$\bar{X} = 1.232 \pm 0.037$		

De manera general, se observó que ninguno de los compuestos analizados de la quimioteca N015 superó la energía de unión obtenida para el ligando N78 (-12.0 kcal/mol). Sin embargo, se encontraron algunos compuestos con energías de unión cercanas (-10.0 a -11.2 kcal/mol). Por ello, se procedió a seleccionar aquellas moléculas con mayor probabilidad de presentar actividad sobre HER2, identificando 19 compuestos dentro de ese intervalo, Tabla 4 y Figura 6.

**Tabla 4.** Compuestos seleccionados por cribado virtual y su energía de unión.

Compuesto	Energía de unión (kcal/mol)	Compuesto	Energía de unión (kcal/mol)
V5049	-10.3	V5149	-10.4
V5052	-10	V5174	-10.4
V5056	<b>-11.2</b>	V5182	-10.1
V5058	<b>-10.8</b>	V5183	-10.1
V5059	<b>-10.7</b>	V5185	-10.1
V5060	-10.2	V5187	-10
V5061	-10.4	V5191	-10
V5063	-10.2	V5192	-10.2
V5145	-10.2	V5193	-10.2
V5147	-10.2	V5149	-10.4

**Figura 6.** Estructura de los compuestos seleccionados por cribado virtual.

De acuerdo con los datos anteriores, destacan tres compuestos con las mejores energías de unión: **V5056** con -11.2 kcal/mol, **V5058** -10.8 kcal/mol y **V5059** con -10.7 kcal/mol. Estos compuestos serían los mejores candidatos para llevar a evaluación biológica y/o usarse como líderes en el diseño de nuevos derivados como inhibidores de HER2. Adicionalmente, el análisis estructural de los compuestos seleccionados muestra que todos los compuestos poseen el mismo núcleo 2,3-difenil-1*H*-indazol y estos se encuentran sustituidos principalmente con grupos amida en el anillo de la

posición 2 y/o 3. Los valores de energía de unión para el resto de la quimioteca N015 se describen en la Tabla A1, anexo.

### 6.5. Diseño de nuevos inhibidores de HER2

Utilizando como base las estructuras de las 19 moléculas seleccionadas por cribado virtual y el ligando cristalizado N78, se propusieron cinco nuevas moléculas por hibridación, las cuales se muestran en la Figura 7. Dichos derivados tomaron como base el núcleo que poseen los 19 compuestos seleccionados por cribado virtual y fueron sustituidos tomando el patrón de sustitución y grupos funcionales observados en los compuestos seleccionados y el ligante N78.

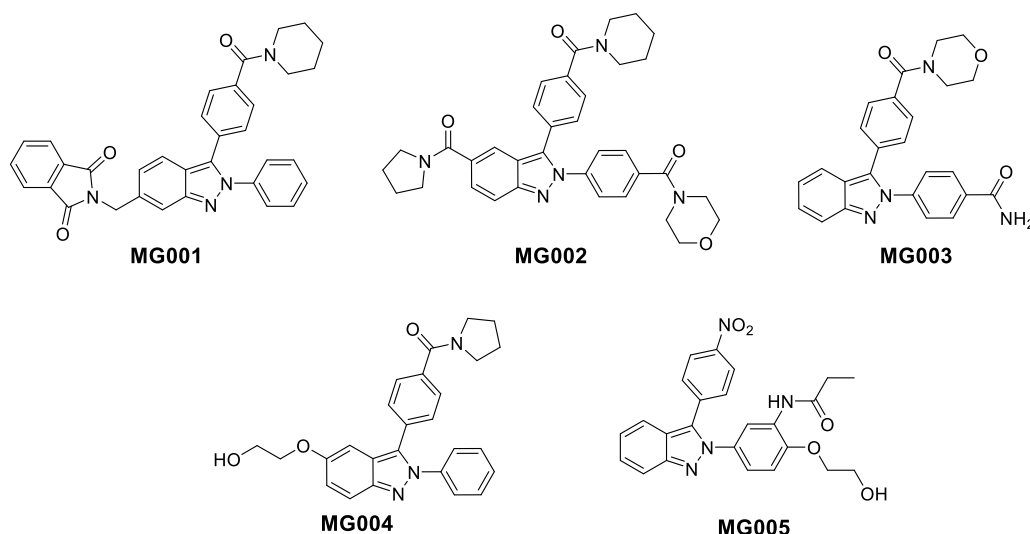


Figura 7. Estructura de los compuestos propuestos por hibridación.

### 6.6. Estudios de acoplamiento molecular sobre HER2 de las moléculas propuestas MG001–005

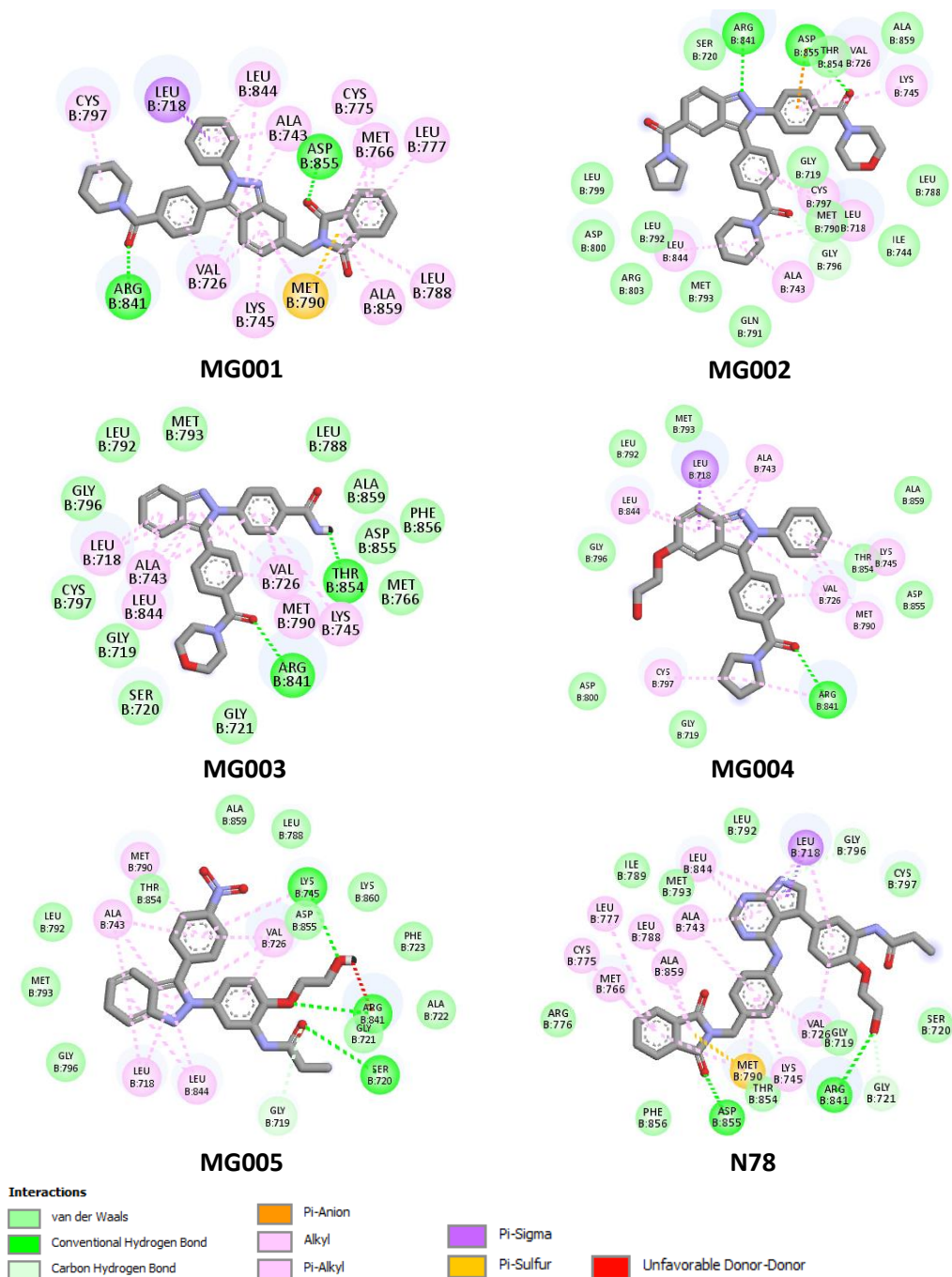
Con el objetivo de evaluar si los compuestos propuestos son potenciales inhibidores del receptor HER2 se realizaron estudios de acoplamiento molecular siguiendo las metodologías descritas para los compuestos de la base de datos N015.

En la Tabla 5 se muestran los resultados para las moléculas **MG001–005**, donde se puede observar que los compuestos propuestos obtuvieron puntajes similares que la base de datos N015. De manera particular, solo el compuesto **MG001** superó al ligando cristalizado N78; no obstante, los compuestos **MG003** y **MG005** obtuvieron los puntajes cercanos a este, siendo los mejores candidatos para continuar estudiando.

Tabla 5. Valores de energía de unión de compuestos propuestos

Ligando	Energía de unión (kcal/mol)
<b>MG001</b>	-13.9
<b>MG002</b>	-9
<b>MG003</b>	-10.7
<b>MG004</b>	-9.9
<b>MG005</b>	-10.1

Adicionalmente, se generaron los diagramas de interacción ligando-receptor en 2D de los cinco compuestos propuestos en el programa *Discovery Studio*, los cuales se detallan en la Figura 8. En esta se pueden observar los distintos tipos de interacciones entre el ligando y los aminoácidos en el sitio de unión.



**Figura 8.** Diagrama de interacciones ligando-proteína para **MG001-005**.

De manera particular, el ligado N78 presentó el mayor número y tipos diferentes de interacciones dentro del sitio activo, siendo más frecuentes las interacciones de tipo Van der Waals y Pi-alkil; sin embargo, la interacción con MET 790 (Pi-sulfuro) se describe como una interacción importante dentro del sitio activo. En cuanto a los compuestos **MG001–005**, estos presentaron principalmente interacciones de tipo Van

der Waals, Pi-alquil y alquil, pero el número de interacciones es considerablemente menor que las observadas para N78; lo anterior como consecuencia del tamaño de la molécula puesto que a mayor tamaño incrementa el número posible de interacciones.

Por su parte, el compuesto **MG001** (mejor puntaje) mostró el mayor número de interacciones que el resto de los ligandos evaluados, teniendo un gran número de coincidencias con N78, especialmente la interacción entre MET 790 y el grupo isoindolindiona. Lo anterior indica que este grupo es vital para mantener la actividad sobre HER2. Cabe mencionar que ambas moléculas presentaron 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 HER2.

### 6.7. Análisis de propiedades de interés farmacéutico

Con el objetivo de comprobar si las moléculas propuestas cumplen con un perfil ADME adecuado para un fármaco administrado por vía oral, se determinaron distintos descriptores químico-farmacéuticos usando la plataforma *SwissADME*. Algunos de los descriptores relevantes son la lipofilia, polaridad, absorción gastrointestinal (GI) y permeabilidad de la barrera hematoencefálica, entre otros. En la Tabla 6 se detallan los descriptores químico-farmacéuticos para los compuestos **MG001-005**.

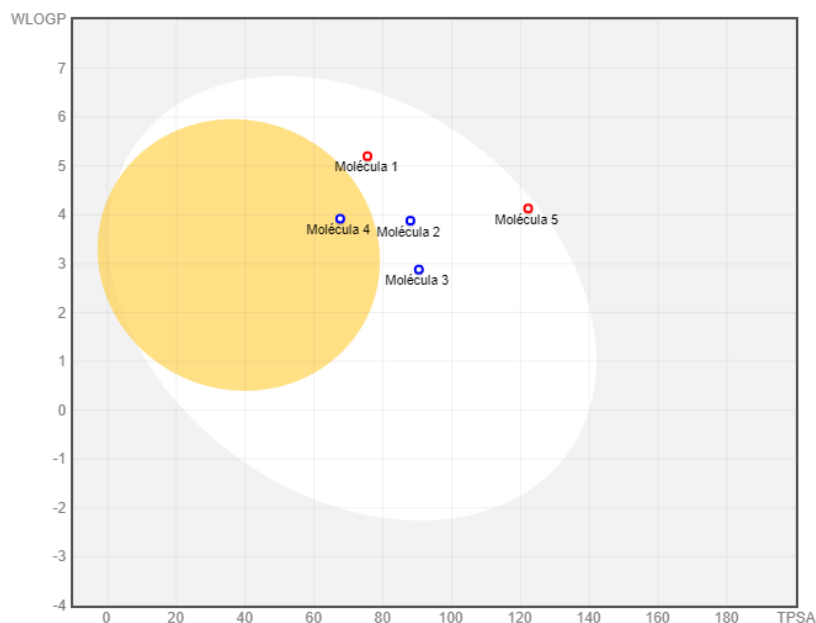
**Tabla 6.** Predicción del perfil ADME para los compuestos propuestos

ID	Log P (Lipofilia)	Log S (Solubilidad)	Criterios farmacéuticos					Alertas estructurales		Metabolismo (CYP450)				
			Lipinski	Ghose	Veber	Egan	Muegge	PAINS	Brenk	CYP1A2 inhibidor	CYP2C19 inhibidor	CYP2C9 inhibidor	CYP2D6 inhibidor	CYP3A4 inhibidor
<b>MG001</b>	5.31	-6.86	2	2	0	0	1	0	1	No	Si	Si	No	Si
<b>MG002</b>	4.43	-6.00	1	3	0	0	0	0	0	No	Si	Si	Si	Si
<b>MG003</b>	2.99	-4.44	0	0	0	0	0	0	0	No	No	Si	Si	Si
<b>MG004</b>	4.03	-5.12	0	0	0	0	0	0	0	No	Si	Si	Si	Si
<b>MG005</b>	1.70	-4.78	0	0	0	0	0	0	2	No	Si	Si	Si	Si

De manera general, las moléculas mostraron un perfil adecuado para desarrollarse como fármacos con biodisponibilidad oral, al cumplir con criterios farmacéuticos importantes como las reglas de Lipinsky, Ghose, Veber, entre otras. Sin embargo, **MG001** y **MG002** presentaron violaciones en los criterios de Lipinsky y Ghose, relacionados por su mayor tamaño y aumento en su lipofilia. Por otro lado, la mayoría de los compuestos serían inhibidores de distintas isoformas del citocromo P450 (CYP450), el cual está relacionado con el metabolismo de la gran mayoría de los fármacos.

Finalmente, se generó el diagrama del huevo hervido<sup>32</sup> para los cinco compuestos propuestos (Figura 9), en este se muestra la potencial distribución, es decir, si los compuestos serían capaces de cruzar la barrera gastrointestinal (zona blanca) o la barrera hematoencefálica (zona amarilla). En el diagrama podemos observar que cuatro de los compuestos se sitúan en la zona blanca, es decir, cruzarían la barrera

gastrointestinal y solo uno (**MG004**) sería capaz de cruzar la barrera hematoencefálica. Estos resultados son favorables dado que los compuestos fueron diseñados como inhibidores de HER2 y es necesario que estén biodisponibles para tener su acción sobre los receptores que se encuentran en la superficie de las células.



**Figura 9.** Diagrama de huevo hervido para los compuestos **MG001–004**.



## 7. Objetivos y metas alcanzadas

- Se realizó una revisión bibliográfica sobre los blancos terapéuticos más relevantes asociados a diversos tipos de cáncer, y se encontró que el receptor HER2, el cual pertenece a la familia de RTK's, es clave para el ciclo de replicación celular y es considerado uno de los blancos terapéuticos más prometedores en el tratamiento del cáncer.
- Se identificaron 19 compuestos como inhibidores del receptor HER2, con buena afinidad sobre el sitio activo, empleando cribado virtual de la base de datos N015.
- Se propusieron cinco nuevas moléculas por hibridación de los derivados encontrados por cribado virtual con núcleo 2,3-difenil-2*H*-indazol, de las cuales **MG001** mostró una mejor de afinidad por el sitio de unión mayor que el ligando de referencia N78.

## 8. Conclusión

A partir de los datos recopilados del acoplamiento molecular se encontró que al menos un 10% de los compuestos de la quimioteca N015 muestran afinidad sobre el receptor HER2. Además, se observó que los compuestos seleccionados por cribado virtual tienen un menor tamaño respecto al ligando N78, es por ello que los valores de afinidad calculados son muy cercanos al ligando de referencia, pero no superiores. No obstante, los compuestos identificados se unen al mismo sitio de unión de manera similar. Por lo anterior no se descarta que el 10% de los compuestos de la quimioteca N015 podrían llegar a presentar actividad biológica sobre HER2.

En cuanto a las moléculas propuestas se encontraron al menos tres candidatos con buenos resultados de acoplamiento molecular sobre HER2, siendo el compuesto **MG001** el compuesto con mayor probabilidad de presentar una acción inhibitoria sobre HER2. Además, el cálculo de descriptores químico-farmacéutico indica que esta molécula tiene un perfil ADME aceptable y podría cruzar la barrera gastrointestinal.

## 9. Perspectiva 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* para comprobar si los compuestos identificados tienen actividad sobre HER2 y ser usados para el desarrollo de fármacos selectivos.

Por otro lado, para las estructuras propuestas se deberá proponer una ruta sintética favorable para su obtención y posteriormente ser llevadas a evaluación biológica, con la finalidad de estudiar a profundidad si estos compuestos pudieran llegar a impactar favorablemente en un tratamiento contra el cáncer.

## 10. Referencias

- 1) Saldívar-González, F., Prieto-Martínez, F., & Medina-Franco, J. (2017). Descubrimiento y desarrollo de fármacos: un enfoque computacional. *Educación química*, 28(1), 51-58. <https://doi.org/10.1016/j.eq.2016.06.002>
- 2) Gómez, L.A. (2001). El inhibidor de la cinasa Bcr-Abl, STI 571, un ejemplo de terapia del cáncer basada en blancos moleculares. *Biomédica*, 21(2), 104-106.
- 3) Trenker, R., & Jura, N. (2020). Receptor tyrosine kinase activation: From the ligand perspective. *Current opinion in cell biology*, 63, 174–185. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2020.01.016>
- 4) Yamaoka, T., Kusumoto, S., Ando, K., Ohba, M., & Ohmori, T. (2018). Receptor Tyrosine Kinase-Targeted Cancer Therapy. *International journal of molecular sciences*, 19(11), 3491. <https://doi.org/10.3390/ijms19113491>
- 5) Oliveros-Wilches, R., Sierra-Prieto, J.A., Bonilla González, C. & Mesa López de Mesa, J.A. (2021). La importancia de la determinación del HER2 en el cáncer gástrico avanzado: a propósito de un caso clínico. *Revista Colombiana de Gastroenterología*, 36(1), 2–11. <https://doi.org/10.22516/25007440.503>
- 6) Colonia, A., Rivera, J., Orozco, J. & Marín, D. (2015). HER-2: Un marcador molecular usado en el diagnóstico, pronóstico y tratamiento del cáncer de mama. *Revista Médica de Risaralda*, 21(1), 31-37.
- 7) Reynoso-Noverón, N. & Torres-Domínguez, J.A. (2017). Epidemiología del cáncer en México: carga global y proyecciones 2000-2020. *Revista Latinoamericana de Medicina Conductual*, 8(1), 9-15.
- 8) Brau-Figueroa, H., Palafox-Parrilla, E., & Mohar-Betancourt, A. (2020). El Registro Nacional de Cáncer en México, una realidad. *Gaceta mexicana de oncología*, 19(3), 107-111. <https://doi.org/10.24875/j.gamo.20000030>
- 9) Aude, I.S., Tellez-Gabriel, M., Marie-Françoise H., Dominique H. (2015). Receptor tyrosine kinases: Characterization, mechanism of action and therapeutic interests for bone cancers. *Journal of Bone Oncology*, 4(1), 1-12 <https://doi.org/10.1016/j.jbo.2015.01.001> .
- 10) Wallerand, H., Robert, G., Bernhard, J., Ravaud, A. & Patard, J. (2010). Inhibidores de la tirosina-quinasa en el tratamiento del cáncer de vejiga músculo-infiltrante y el cáncer de próstata hormono-refractario. *Archivos Españoles de Urología*, 63(9), 773-787.
- 11) Zhu, C., Wei, Y., & Wei, X. (2019). AXL receptor tyrosine kinase as a promising anti-cancer approach: functions, molecular mechanisms, and clinical applications. *Molecular cancer*, 18(1), 153. <https://doi.org/10.1186/s12943-019-1090-3>
- 12) Lahera Sánchez, T., & González Hernández, O. (2010). El receptor del factor de crecimiento epidérmico y su papel en el desarrollo tumoral. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 9(2), 172-180.
- 13) Gandullo, L. (2021) Cáncer de mama HER2+: mecanismos de resistencia a tratamientos dirigidos y nuevas dianas terapéuticas. Tesis doctoral, Universidad de Salamanca. Repositorio institucional de la Universidad de Salamanca. <http://hdl.handle.net/10261/280906>
- 14) Du, Z., Lovly, C.M. (2018) Mechanisms of receptor tyrosine kinase activation in cancer. *Molecular Cancer*, 17(58). <https://doi.org/10.1186/s12943-018-0782-4>

- 15) Medina-Franco, J., López-Vallejo, F., Castillo, R. (2006) Diseño de fármacos asistido por computadora. *Educación química*, 17(4), 452-457 <https://doi.org/10.22201/fq.18708404e.2006.4.66027>
- 16) Ballón Paucara, W., & Grados Torrez, R. (2019). Acoplamiento molecular: criterios prácticos para la selección de ligandos biológicamente activos e identificación de nuevos blancos terapéuticos. *Revista CON-CIENCIA*, 7(2), 55-72.
- 17) Pérez-Sánchez, H., Cano G., García-Rodríguez, J., Cecilia J. (2015). Descubrimiento de fármacos basado en cribado virtual refinado con enfoques neuronales paralelos. *Revista Internacional de Métodos Numéricos para Cálculo y Diseño en Ingeniería*, 31(4), 207-211. <https://doi.org/10.1016/j.rimni.2014.06.004>
- 18) Medina-Franco, J.L. (2013). Advances in computational approaches for drug discovery based on natural products. *Revista latinoamericana de química*, 41(2), 95-110.
- 19) Cuanalo-Contreras, L., Merino-Contreras, S., & Scior, T. (2011). ¿Qué sabe Ud. acerca de Cribado Virtual? *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas*, 42(2), 54-55.
- 20) Berman, H.M., Westbrook, J., Feng, Z., Gilliland, G., Bhat, T.N., Weissig, H. Shindyalov, I.N., Bourne, P.E. (2000) The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Research*, 28, 235-242. <https://doi:10.1093/nar/28.1.235>
- 21) Lategahn, J., Hardick, J., Grabe, T., Niggenaber, J., Jeyakumar, K., Keul, M., & Rauh, D. (2020). Targeting Her2-insYVMA with Covalent Inhibitors-A Focused Compound Screening and Structure-Based Design Approach. *Journal of medicinal chemistry*, 63(20), 11725–11755. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c00870>.
- 22) Pettersen, E.F., Goddard, T.D., Huang, C.C., Couch, G.S., Greenblatt, D.M., Meng, E.C., and Ferrin, T.E. (2004) UCSF Chimera - A Visualization System for Exploratory Research and Analysis. *Journal of Computational Chemistry*. 25, 1605-1612.
- 23) Krieger, E., Joo, K., Lee, J., Lee, J., Raman, S., Thompson, J., Tyka, M., Baker, D., & Karplus, K. (2009) Improving physical realism, stereochemistry, and side-chain accuracy in homology modeling: Four approaches that performed well in CASP8. *Proteins*, 77(9), 114–122. <https://doi.org/10.1002/prot.22570> ]
- 24) The PyMOL Molecular Graphics System, Version 2.0 Schrödinger, LLC.
- 25) Ramachandran plot. Disponible en: <https://swift.cmbi.umcn.nl/servers/html/ramaplot.html>
- 26) Avogadro: Molecular Editor and Visualization, Versión 1. University of Pittsburgh Department of Chemistry.
- 27) Dallakyan, S., & Olson, A.J. (2015). Small-molecule library screening by docking with PyRx. *Chemical biology: methods and protocols*, 243-250.
- 28) Eberhardt, J., Santos-Martins, D., Tillack, A.F. & Forli, S. (2021). AutoDock Vina 1.2.0: New Docking Methods, Expanded Force Field, and Python Bindings. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 61(8), 3891-3898
- 29) Morris, G.M., Huey, R., Lindstrom, W., Sanner, M.F., Belew, R.K., Goodsell, D. S. and Olson, A. J. (2009) Autodock4 and AutoDockTools4: automated docking with selective receptor flexibility. *Journal Computational Chemistry*, 16, 2785-2791.
- 30) BIOVIA, Dassault Systèmes. Biovia discovery studio visualizar 2021.
- 31) 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), 42717. <https://doi.org/10.1038/srep42717>
- 32) Daina, A., & Zoete, V. (2016). A boiled-egg to predict gastrointestinal absorption and brain penetration of small molecules. *ChemMedChem*, 11(11), 1117-1121.

## 11.Anexos

**Tabla A1.** Mejores valores de energía de unión ( $\Delta G$ ) para cada molécula de la quimioteca N015.

Ligando	$\Delta G$	Ligando	$\Delta G$	Ligando	$\Delta G$	Ligando	$\Delta G$	Ligando	$\Delta G$	Ligando
V5001	-5.9	V5031	-8.7	V5061	-10.4	V5091	-7.8	V5121	-7.4	V5151
V5002	-8.1	V5032	-8.5	V5062	-9.0	V5092	-9.2	V5122	-6.9	V5152
V5003	-8.0	V5033	-8.4	V5063	-10.2	V5093	-8.8	V5123	-5	V5153
V5004	-8.3	V5034	-8.3	V5064	-5.4	V5094	-8.9	V5124	-5	V5154
V5005	-8.6	V5035	-8.1	V5065	-8.1	V5095	-8.3	V5125	-6.5	V5155
V5006	-8.4	V5036	-8.2	V5066	-9.2	V5096	-7.9	V5126	-7.2	V5156
V5007	-8.3	V5037	-9.5	V5067	-8.5	V5097	-9.2	V5127	-9.6	V5157
V5008	-8.4	V5038	-9.6	V5068	-6.9	V5098	-9.7	V5128	-8.6	V5158
V5009	-8.4	V5039	-9.6	V5069	-5.4	V5099	-8.2	V5129	-8.7	V5159
V5010	-8.2	V5040	-9.6	V5070	-5.9	V5100	-7.1	V5130	-8.4	V5160
V5011	-8.2	V5041	-9.7	V5071	-8.5	V5101	-8.6	V5131	-8.3	V5161
V5012	-8.3	V5042	-9.7	V5072	-8.1	V5102	-6.7	V5132	-7.2	V5162
V5013	-9.0	V5043	-9.6	V5073	-7.8	V5103	-7.4	V5133	-7.0	V5163
V5014	-8.5	V5044	-9.6	V5074	-9.4	V5104	-8.1	V5134	-7.1	V5164
V5015	-8.6	V5045	-9.8	V5075	-9.5	V5105	-7.4	V5135	-9.5	V5165
V5016	-8.5	V5046	-9.5	V5076	-7.7	V5106	-8.0	V5136	-8.1	V5166
V5017	-8.8	V5047	-9.4	V5077	-8.3	V5107	-7.6	V5137	-8	V5167
V5018	-9.5	V5048	-9.5	V5078	-7.5	V5108	-7.1	V5138	-8.6	V5168
V5019	-8.6	V5049	-10.3	V5079	-7.0	V5109	-7.2	V5139	-9.2	V5169
V5020	-9.0	V5050	-9.8	V5080	-8.8	V5110	-6.1	V5140	-9.6	V5170
V5021	-9.4	V5051	-9.8	V5081	-9.3	V5111	-7.2	V5141	-8.9	V5171
V5022	-8.2	V5052	-10.0	V5082	-9.1	V5112	-7.4	V5142	-8.8	V5172
V5023	-8.3	V5053	-9.9	V5083	-6.5	V5113	-6	V5143	-8.8	V5173
V5024	-8.8	V5054	-9.6	V5084	-6.0	V5114	-7.6	V5144	-9.1	V5174
V5025	-8.5	V5055	-9.6	V5085	-6.6	V5115	-7.4	V5145	-10.2	V5175
V5026	-8.5	V5056	-11.2	V5086	-6.0	V5116	-7	V5146	-8.8	V5176
V5027	-9.2	V5057	-9.6	V5087	-5.7	V5117	-7.5	V5147	-10.2	V5177
V5028	-8.4	V5058	-10.8	V5088	-6.1	V5118	-7.6	V5148	-8.8	V5178
V5029	-8.8	V5059	-10.7	V5089	-7.4	V5119	-8	V5149	-10.4	V5179
V5030	-8.8	V5060	-10.2	V5090	-7.5	V5120	-7.1	V5150	-9.7	V5180