



UNIVERSIDAD DE JAÉN

Facultad de ciencias experimentales

Trabajo Fin de Grado

**BÚSQUEDA DE COMPUESTOS
CON UN MOTIVO ESTRUCTURAL
DEL TIPO QUINOLINA/PIRIMIDINA
COMO INHIBIDORES DE HER2.
POTENCIALES AGENTES
FRENTA AL CÁNCER DE MAMA.**

Alumno/a: Pedro Martín Vega Rodríguez

Grado: Química

Junio, 2024



Trabajo de Fin de Grado

BÚSQUEDA DE COMPUESTOS
CON UN MOTIVO
ESTRUCTURAL DEL TIPO
QUINOLINA/PIRIMIDINA COMO
INHIBIDORES DE HER2.
POTENCIALES AGENTES
FRENTE AL CÁNCER DE MAMA

Alumno: Pedro Martín Vega Rodríguez

Jaén, Junio, 2021

Índice

1.	RESUMEN/ABSTRACT	1
2.	INTRODUCCIÓN	2
2.1	Definición de cáncer	2
2.2	Tratamientos contra el cáncer	2
2.3	Agentes alquilantes	3
2.4	Antimetabolitos.....	4
2.4.1	Análogos de purinas.	5
2.4.2	Análogos de pirimidinas.....	5
2.4.3	Antifolatos.....	6
3.	RECEPTOR-2 DEL FACTOR DE CRECIMIENTO EPIDÉRMICO HUMANO (HER2).....	7
3.1	Estructura del HER2.....	8
3.2	Mecanismo del HER2.....	8
4.	INHIBIDORES DEL HER2.	9
4.1	Inhibidores del extracelular ligand-binding domain (ECB): Pertuzumab y Trastuzumab.....	10
4.2	Inhibidores del dominio de la quinasa de los ErbB.....	10
4.2.1	Lapanitib	10
4.2.2	Gefitinib	11
4.2.3	Vandetanib	11
5.	REPOSICIONAMIENTO DE FÁRMACOS EN LA LUCHA FRENTE AL CÁNCER.	12
6.	OBJETIVOS.....	12
6.1	Objetivos específicos y plan de trabajo	12
7.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	13
7.1	Búsqueda de complejos proteicos en la <i>Protein Data Bank</i> (PDB).	13

7.2	Búsqueda de fármacos en <i>Drugbank</i> .	14
7.3	Docking molecular.	17
8.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	18
8.1	Estructura del sitio activo del HER2	18
8.2	Estudio <i>in-silico</i> . Modelización molecular (docking).	23
8.2.1	Estudio in-silico de los fármacos seleccionados.	23
9.	CONCLUSIONES.	48
10.	BIBLIOGRAFÍA.	49

1. RESUMEN/ABSTRACT

RESUMEN

En el presente Trabajo de Fin de Grado se ha llevado a cabo una revisión bibliográfica para conocer las características estructurales y funcionales del receptor-2 del factor de crecimiento epidérmico humano o HER2 y una revisión de fármacos aprobados por la Administración de Alimentos y Fármacos o FDA.

La inhibición del HER2 es uno de los principales objetivos en las terapias contra el cáncer de mama HER2 positivo, debido a su implicación en la proliferación celular, al activar vías de señalización por autofosforilación de sustratos mediante ATP en su dominio quinasa.

Tras la revisión de los fármacos, se seleccionaron 21 fármacos para intentar reposicionarlos como inhibidores del HER2, mediante simulación computacional. El proceso de docking se realizó utilizando dos métodos diferentes, farmacóforo y *Triangle Matcher*.

De esta manera se pueden comparar los resultados obtenidos y reforzar los ligandos, que tengan resultados similares, como inhibidores del HER2.

ABSTRACT

In this dissertation a bibliographic review of the structural and functional characteristics of the human growth epidermal factor receptor 2 or HER2 and a review of drugs approved by the Food and Drug Administration or FDA.

The HER2 inhibition is one of the main targets in breast cancer therapy due to its involvement in cell proliferation, by activating the signaling pathways by phosphorylation of substrates by ATP in its kinase domain.

After reviewing the approved drugs, 21 were selected to do a drug repositioning by computational simulation. The docking process was made using two different methods, pharmacophore and *Triangle Matcher*.

This way the results can be compared, and strengthen the ligands with similar results, as inhibitors of HER2.

2. INTRODUCCIÓN

2.1 Definición de cáncer

El cáncer es un conjunto de enfermedades por las que algunas células del cuerpo se multiplican sin control y se extienden a otras partes del cuerpo. Se caracteriza por la pérdida de control en la división celular, producida por mutaciones en el material genético, lo que lleva a la formación de un tumor primario que invade y destruye los tejidos adyacentes. (Avendaño & Menéndez, 2008)

Las alteraciones del material genético se producen principalmente por tres factores, excluyendo el factor genético, que son los carcinógenos físicos, como la radiación ionizante o ultravioleta; los carcinógenos químicos, como el amianto y los carcinógenos biológicos, como algunos virus (retrovirus) o bacterias.

Los signos identificativos del cancer o “hallmarks of cancer” son la autosuficiencia en señales de proliferación, mantenimiento de las señales de replicación, evasión de la apoptosis, inmortalidad replicativa, angiogénesis sostenida, invasión tisular metástasis, reprogramación metabólica, evasión de la respuesta inmune, inestabilidad en el genoma e inflamación crónica. (Fouad & Aanei, 2017)

2.2 Tratamientos contra el cáncer

Hay diversos tratamientos contra el cáncer como la inmunoterapia, quimioterapia, radioterapia, tratamientos hormonales, cirugía, etc. Siendo los más comunes la quimioterapia, radioterapia y la cirugía.

Uno de los grandes problemas que tiene la quimioterapia es su toxicidad no específica. Esto se debe a que el objetivo de estos medicamentos es, bloquear el mecanismo de la división celular, por tanto, ataca tanto a células tumorales como a células sanas. (Avendaño & Menéndez, 2008)

Existe una amplia variedad de agentes antineoplásicos, los cuales se diferencian en función de su mecanismo o su punto de acción. Entre los que destacan los agentes alquilantes y los antimetabolitos.

2.3 Agentes alquilantes

Los agentes alquilantes interfieren directamente en la replicación del ADN, mediante la unión covalente al ADN, y pueden ser monofuncionales (reaccionan con una cadena de ADN) o bifuncionales (reaccionan con 1 átomo de dos cadenas de ADN formando enlaces cruzados). (Avendaño & Menéndez, 2008)

Sus mecanismos de acción se basan en la formación de enlaces cruzados (como en la figura 2.1), de tal forma que se impide la separación de las cadenas del ADN; la inducción de un emparejamiento incorrecto de nucleótidos y la alquilación de las bases del ADN. Esto provoca la acción de enzimas reparadoras que intentan remplazar las bases alquiladas, con lo que da como resultado la fragmentación del ADN. (Ranju, 2007)

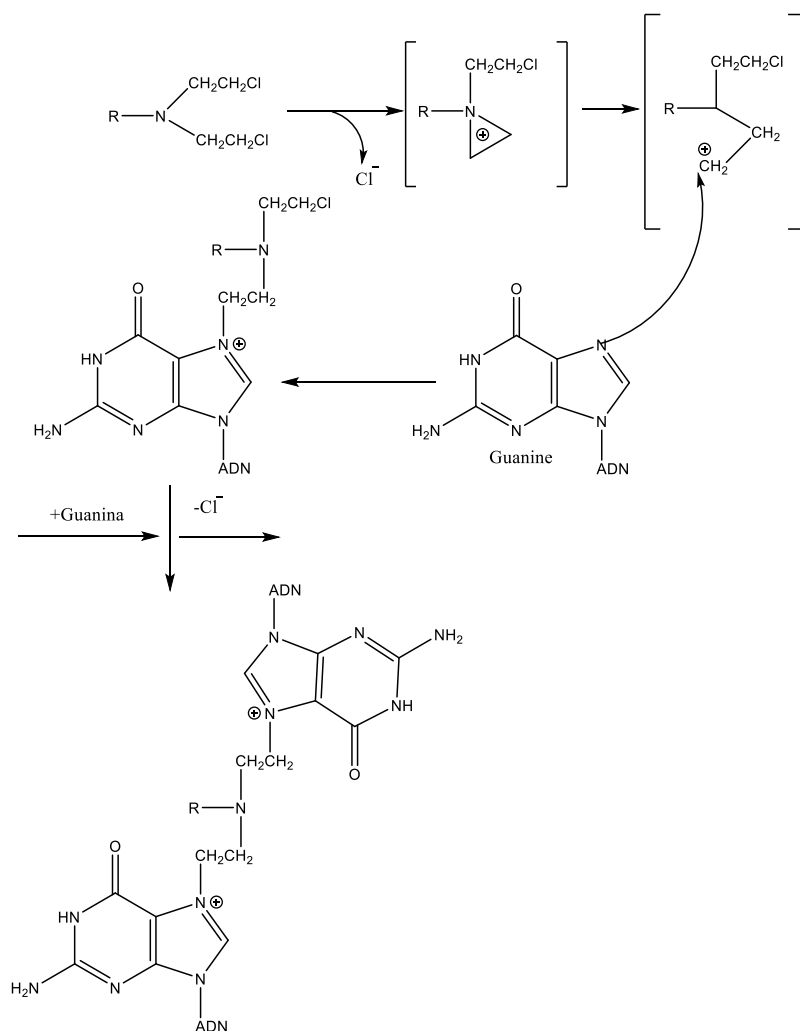


Figura 2.1 Mecanismo de un agente alquilante bifuncional.

Sin embargo, el problema de los agentes alquilantes es su poca especificidad, debido a que pueden actuar en todas las fases del ciclo celular (Figura 2.2). Además, pueden inducir cánceres secundarios y son altamente tóxicos.

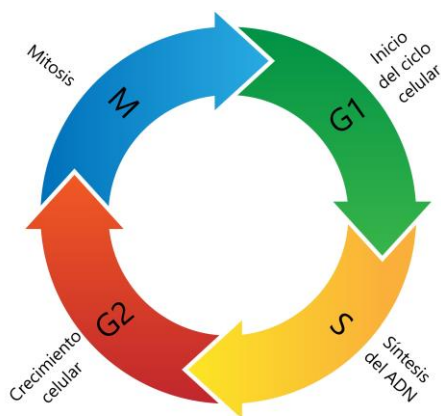


Figura 2.2 Fases del ciclo celular

Un ejemplo de agentes alquilantes son los complejos de coordinación del platino (como los de la figura 2.3) utilizados en el tratamiento del cáncer de testículo, ovario, vejiga, esófago, pulmón y colon.

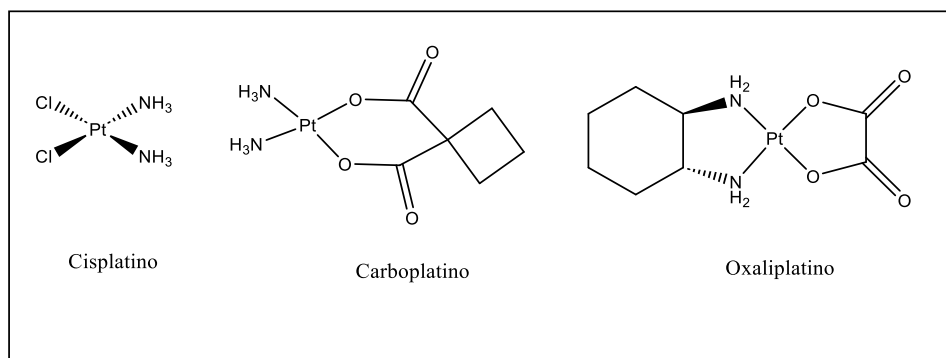


Figura 2.3. Agentes alquilantes. Complejos de coordinación del platino.

2.4 Antimetabolitos.

Los antimetabolitos son análogos estructurales de metabolitos, que interfieren con su función o uso, mediante la inhibición de sus rutas metabólicas esenciales. Por tanto, solo actúan durante la fase S del ciclo celular.

A pesar de que, las enzimas inhibidas por estos antimetabolitos están presentes en las células normales, se llega a cierta selectividad debido a la mayor tasa de división de las células cancerosas.

La mayoría de antimetabolitos interfieren con la síntesis de ácidos nucleicos mediante los siguientes mecanismos: (Avendaño & Menéndez, 2008).

- Competición por los sitios activos de enzimas que participan en procedimientos de biosíntesis esencial.
- La incorporación a los ácidos nucleicos, lo cual inhibe su función y da lugar al proceso de apoptosis.

Los antimetabolitos que interfieren con la síntesis de ácidos nucleicos son los análogos estructurales de purinas, pirimidinas y del ácido fólico.

2.4.1 Análogos de purinas.

Las bases púricas (adenina y guanina) forman parte del ADN y tienen un papel importante en la síntesis de ácidos nucleicos. Debido a esto último se buscan estructuras análogas que eviten su incorporación al ADN, interrumpiendo así el ciclo celular. Como ejemplo están las tiopurinas como la mercaptopurina (I), antimetabolito de la guanina (II), utilizada principalmente en el tratamiento de la leucemia linfocítica aguda. A continuación, se muestran, en la figura 2.4 la mercaptopurina (I) y la guanina (II).

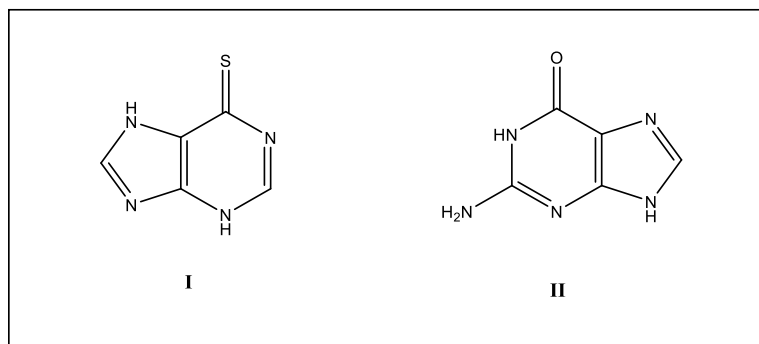


Figura 2.4. Mercaptopurina (I) y guanina (II)

2.4.2 Análogos de pirimidinas.

Las bases pirimidínicas (uracilo, timina y citosina) forman parte del ADN (del ARN en el caso del uracilo) y tienen un papel fundamental en la síntesis del ADN, al igual que las bases de purina. Por tanto, se buscan análogos estructurales que puedan metabolizarse y actuar como inhibidores en la síntesis del ADN.

El análogo de pirimidina más usado es el 5-fluorouracilo (**III**), un análogo estructural del uracilo (**IV**) sustituido con un flúor. En la figura 2.5 se puede ver una comparación estructural del uracilo (**IV**) con este análogo.

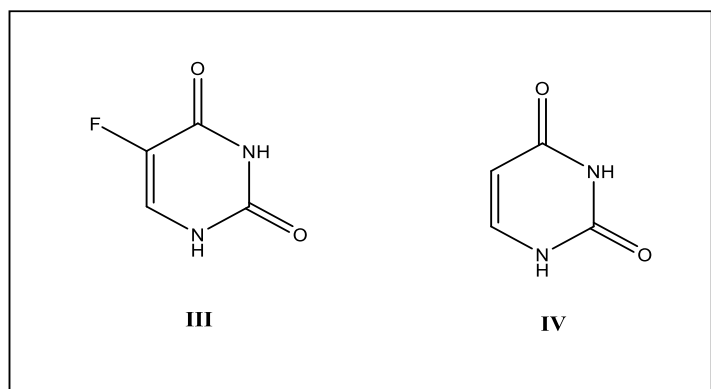


Figura 2.5 5-Fluorouracilo (**III**) y Uracilo (**IV**)

2.4.3 Antifolatos.

El ácido fólico (**V**) es un precursor importante del ADN, que sufre primero una reducción a dihidrofolato y luego a tetrahidrofolato por la enzima dihidrofolato reductasa, (DHFR). Los folatos reducidos actúan como cofactores de la timidilato sintasa, que cataliza la síntesis de nucleótidos de pirimidina. (Airley, 2009).

Por tanto, estructuras como el metotrexato (**VI**) pueden inhibir la síntesis de nucleótidos de pirimidina mediante la competición con el ácido fólico por el sitio activo de la DHFR. Provocando así, que el ácido fólico no se reduzca y no actúe como cofactor de la timidilato sintasa.

En la figura 2.6 se muestra una comparación entre el ácido fólico (**V**) y el metotrexato (**VI**).

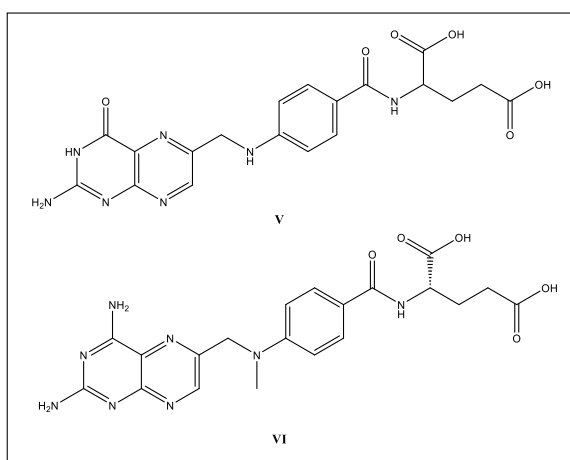


Figura 2.6 ácido fólico (**V**) y metotrexato (**VI**)

Otro ejemplo es la *Capecitabina*, mostrada en la figura 2.7, es un profármaco de 5-fluorouracilo, que se activa en el tejido tumoral mediante las enzimas citidina desaminasa y timidina fosforilasa. De esta forma se sintetiza 5-fluoro-2'-desoxiuridina-5'-fosfato el cual se une a la timidilato sintasa, inhibiendo la síntesis e incorporación de nucleótidos de timina. (Airley, 2009)

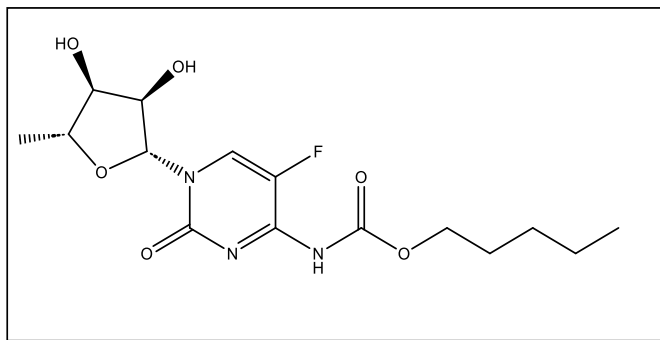


Figura 2.7 *Capecitabina*

3. RECEPTOR-2 DEL FACTOR DE CRECIMIENTO EPIDÉRMICO HUMANO (HER2)

Las enzimas pueden jugar un papel crucial en el desarrollo del cáncer, debido a que se suelen sobre expresar genes que intervienen en el metabolismo celular, incrementando, por ejemplo, la actividad de la ruta metabólica de la glucólisis. (Rengifo et al., 2007)

Además de enzimas que están involucradas en el metabolismo, hay receptores hormonales que pueden jugar un papel importante en el desarrollo de la enfermedad. Como ejemplo tenemos los factores del crecimiento epidérmico humano o HERs que participan en procesos de proliferación celular.

El Receptor-2 del factor de crecimiento epidérmico humano o HER2 es una glucoproteína normalmente expresada en el epitelio de varios órganos como los pulmones, el páncreas, las mamas y la próstata.

Pertenece a un grupo de factores de crecimiento con una actividad controlada por ligandos tirosina-quinasa, la familia ErbB o HER de receptores tirosina-quinasas (RTKs).

Los RTKs tienen un rol crucial en las vías de señalización que gobiernan procesos celulares clave como la proliferación, migración, metabolismo, diferenciación y supervivencia. Con lo que agrava el desarrollo del cáncer. (Álvarez et al., 2013)

3.1 Estructura del HER2

Esta familia de receptores está compuesta por un dominio extracelular donde se unen los ligandos o ECB (extracelular ligand-binding domain), una región transmembrana hidrofóbica y una porción tirosina-quinasa intracelular. Tal como se ve en la figura 3.8

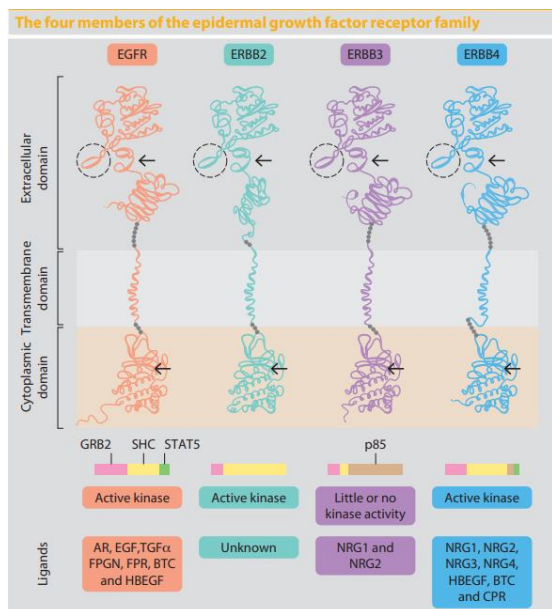


Figura 3.8 Estructuras de los HERs. Cada uno de los receptores tiene tres grandes dominios. El dominio extracelular (ligand-binding), el dominio transmembrana y el dominio citoplasmático (dominio quinasa). (Álvarez et al., 2013)

Este último dominio comprende una cola C-terminal que incluye un centro de unión para el ATP para la fosforilación o autofosforilación de los respectivos sustratos. (Álvarez et al., 2013)

3.2 Mecanismo del HER2

Las proteínas ErbB permanecen inactivas en la membrana plasmática de las células y son activadas mediante la unión de un ligando. El ligando, que suele ser un factor de crecimiento epidérmico (EGF) o neurregulinas, unido al RTK se somete a un cambio conformacional que induce la dimerización de los receptores, causando la autofosforilación de los residuos de tirosina en los dominios de quinasa catalíticos. Esto provoca la transducción de la señal. Sin embargo, el HER2 no necesita de la unión de un ligando para pasar a una conformación activa y puede dimerizar sin necesidad de enlazarse a un ligando.

El HER2 se asocia preferentemente a otras proteínas ErbB, como se ve en la figura 3.9.

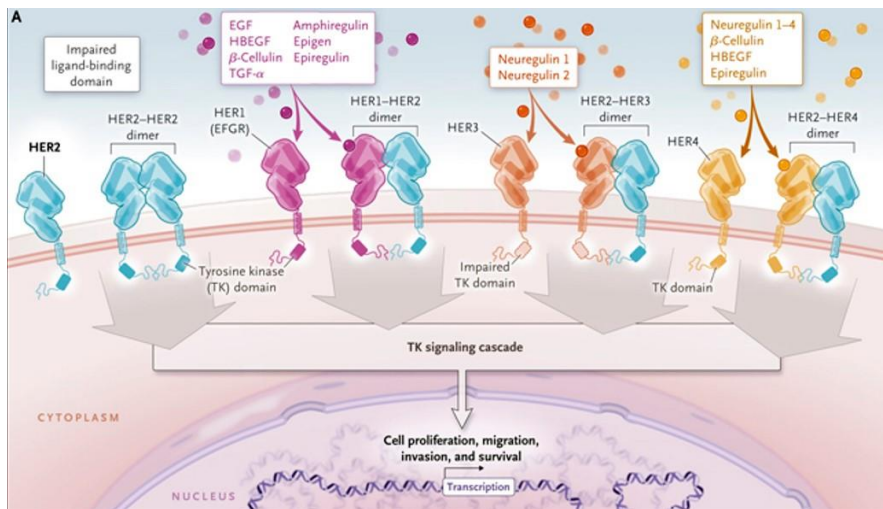


Figura 3.9 mecanismo de los HER (F. Hayes, 2019)

Los heterodímeros que se forman tienen mayor transducción de señal (más potente) que los homodímeros de HER2 u otras proteínas ErbB. La asociación del HER2 con la HER3 es muy potente debido a que el HER3 contiene sitios activos para el fosfatidilinositol-3-quinasa (PI3K), el cual activa fuertemente la vía de señalización PI3K-Akt-mTOR, mientras que la HER2 señala a través de la vía de las proteína-quinazas activadas por mitógenos o MAPK.

La desregulación de la señalización de la PI3K y MAPK mejora fuertemente la proliferación celular y la evasión de la apoptosis. (Álvarez et al., 2013)

Una sobreexpresión de esta proteína en el cáncer mama positivo en HER2 provoca un exceso en la dimerización de las proteínas ErbB y en un incremento de señalización celular, resultando en una mayor resistencia a las diferentes quimioterapias.

4. INHIBIDORES DEL HER2.

Las terapias dirigidas al cáncer de mama positivo en HER2 más comunes, se basan en el empleo de anticuerpos monoclonales que se unan a las proteínas HER2 e impidan su dimerización, bloqueando así las señales de crecimiento celular.

Sin embargo, hay otro tipo de compuestos en desarrollo que son moléculas pequeñas que se unen al dominio intracelular del dominio de la tirosina-quinasa impidiendo su fosforilación y así evitar la transducción de la señal.

4.1 Inhibidores del extracelular ligand-binding domain (ECB): Pertuzumab y Trastuzumab

El *Trastuzumab* es un anticuerpo monoclonal humanizado. Se dirige al dominio extracelular del receptor HER2 y previene la activación de su dominio tirosina-quinasa por medio de varios mecanismos. Entre estos se encuentran el bloqueo directo de la dimerización de la HER2, el anclaje a su dominio extracelular y la activación del sistema inmune.

El *Pertuzumab* es un anticuerpo monoclonal, que a diferencia del *Trastuzumab*, se une a un epítipo diferente del dominio extracelular de la HER2 e impide su dimerización principalmente con HER3. (Colonia et al., 2015).

4.2 Inhibidores del dominio de la quinasa de los ErbB

Son fármacos diseñados para inhibir la actividad tirosina-quinasa de los receptores ErbB. Son moléculas de tamaño pequeño que se desarrollaron como terapias alternativas al *Trastuzumab* o *Pertuzumab*.

Todas las estructuras de este tipo tienen en común un núcleo de benzopirimidina. Por este motivo, la búsqueda de estructuras se centró sobre todo en análogos de pirimidina y quinolina.

Como ejemplos se verán *Lapanitib*, *Gefitinib* y *Vandetanib*.

4.2.1 Lapanitib

El *Lapanitib* (VII), cuya estructura se encuentra en la figura 4.10, es una molécula pequeña que inhibe la actividad tirosina quinasa de los receptores HER2 y del HER1 mediante la unión al centro activo.

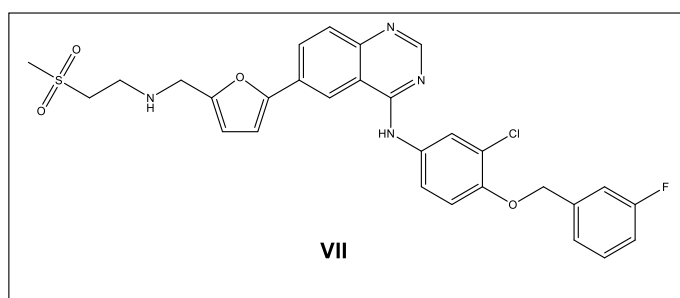


Figura 4.10 Estructura del Lapanitib

Este compuesto surgió como terapia alternativa al cáncer de mama metastásico HER2 positivo, donde el cáncer progresó luego de los tratamientos con *Trastuzumab*. (Colonia et al., 2015)

Se usa en una terapia combinada con la *Capecitabina* y tiene un IC_{50} de 7nM para el HER2. (Collins et al., 2019)

4.2.2 Gefitinib

Gefitinib (VIII) es una molécula pequeña utilizada en el cáncer de próstata no metastásico. Tiene bastantes semejanzas estructurales con el *Lapanitib* (VII), como se puede observar en la figura 4.11. Tiene un IC_{50} de 6nM, teniendo mejor acción inhibidora sobre el HER2 que el *Lapanitib* (VII). (Wang & Chang, 2018)

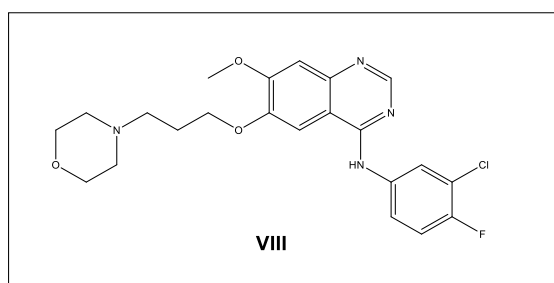


Figura 4.11 Estructura del *Gefitinib* (VIII)

4.2.3 Vandetanib

El *Vandetanib* (IX) es un fármaco utilizado en el tratamiento del cáncer de vejiga, más concretamente el de células transicionales. Actúa de la misma forma y tiene una semejanza estructural notable con los dos inhibidores anteriores, como se puede observar en la figura 4.12.

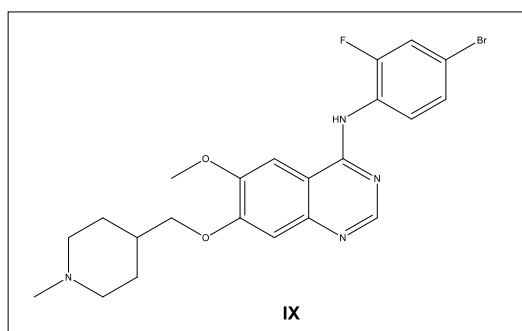


Figura 4.12 Estructura del *Vandetanib* (IX)

El *Vandetanib* tiene un IC_{50} de 40nM, siendo peor inhibidor que los dos mencionados anteriormente. (Arora & Kumar, 2023)

5. REPOSICIONAMIENTO DE FÁRMACOS EN LA LUCHA FRENTE AL CÁNCER.

El reposicionamiento de fármacos es un proceso de desarrollo de un uso de un fármaco en una enfermedad diferente. El reposicionamiento de fármacos permite reducir el riesgo de fallo, ya que el fármaco reposicionado ha demostrado ser seguro y no tóxico en ensayos clínicos y se estima que el 75% de los fármacos podrían tener otro uso diferente al que se aprobó originalmente.

Para el reposicionamiento de los fármacos, se pueden usar técnicas experimentales y computacionales. En el primer caso se recurre a ensayos con quimiotecas y en el segundo caso se estudian las interacciones fármaco-diana para predecir la afinidad entre ambas. (Sarmiento et al., 2021)

El reposicionamiento de fármacos, al contrario de lo que ocurre con el desarrollo de nuevos medicamentos, resulta mucho más barato y rápido, debido a que se pueden obtener a menor costo que medicamentos en desarrollo y se conocen los parámetros de farmacocinética, farmacodinamia y la toxicidad.

La reutilización de fármacos desempeña un papel fundamental en el descubrimiento de medicamentos con actividad antitumoral, debido a la heterogeneidad del cáncer. Los blancos terapéuticos para combatir el avance de la enfermedad suelen ser diversos, por tanto, resulta ventajoso disponer de medicamentos ya conocidos. (Kulkarni et al., 2023)

6. OBJETIVOS

El objetivo principal consiste en llevar a cabo un estudio mediante modelización molecular de un conjunto de fármacos aprobados con estructuras que contengan principalmente quinolina o pirimidina, con el fin de encontrar nuevos inhibidores para la HER2 y así poder reposicionarlos como agentes frente al cáncer de mama.

6.1 Objetivos específicos y plan de trabajo

Los objetivos específicos propuestos en consecución del objetivo principal son:

- Conocer la estructura y función del HER2.
- Aprender a utilizar el software computacional MOE.

- Revisión de fármacos aprobados por la *Administración de Alimentos y Medicamentos* (FDA).
- Estudiar, mediante simulación computacional, la eficacia de dichos medicamentos como inhibidores del HER2.
- Concluir si, estos fármacos, podrían reposicionarse como inhibidores del HER2 como potenciales agentes frente al cáncer de mama.

El plan de trabajo seguido para alcanzar el objetivo principal ha sido el siguiente:

1. Revisión bibliográfica.
2. Búsqueda en el *Protein Data Bank* de complejos del dominio tirosina-quinasa del HER2.
3. Seleccionar un complejo enzimático.
4. Búsqueda de fármacos aprobados en *Drugbank*.
5. Seleccionar fármacos con un patrón estructural parecido a los inhibidores del HER2, seleccionando principalmente derivados de pirimidina y quinolina.
6. Aprendizaje en el uso de MOE para realizar la simulación computacional.
7. Preparar el complejo seleccionado.
8. Estudiar mediante docking computacional, la efectividad de los fármacos seleccionados como inhibidores del HER2 para reposicionarlos como agentes contra el cáncer de mama.

7. MATERIALES Y MÉTODOS.

7.1 Búsqueda de complejos proteicos en la *Protein Data Bank* (PDB).

Para elegir el complejo enzima-ligando, se buscó en *Protein Data Bank*. Una base de datos de proteínas y enzimas cuya estructura ha sido caracterizada previamente mediante cristalografía.

Las estructuras son almacenadas en formato PDB, el cual contiene información de las coordenadas atómicas, factores estructurales cristalográficos, información sobre las estructuras primaria y secundaria y una base de datos de información sobre la conformación biológica de la proteína para la corrección de errores estructurales que pueda haber.

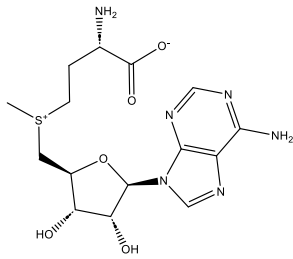
Después de realizar una búsqueda de complejos del dominio tirosina-quinasa del HER2, se escogió el complejo **3RCD**. Este complejo pese a no tener una resolución

excelente (3.21 Å), no presenta aminoácidos modificados y viene con un único ligando de referencia. El ligando de referencia es el **Tak-285**, el cual se puede decir que es un buen inhibidor porque tiene un IC₅₀ de 17nM para el HER2.

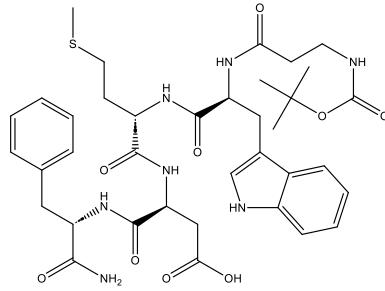
7.2 Búsqueda de fármacos en *Drugbank*.

Drugbank (<https://go.drugbank.com>) es una base de datos de medicamentos ampliamente utilizada para facilitar los estudios *in silico* de nuevas dianas farmacológicas, predicción del metabolismo de fármacos, docking, etc.

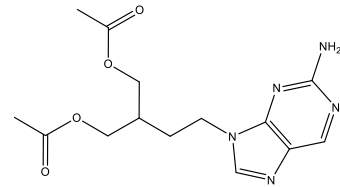
La base de datos utilizada contenía aproximadamente 2500 fármacos aprobados por la *Administración de alimentos y medicamentos* o FDA. De los cuales se seleccionaron aquellos medicamentos que tuviesen principalmente derivados de quinolina o pirimidina. Siendo las estructuras modelizadas las mostradas en las figuras **7.13** y **7.14**



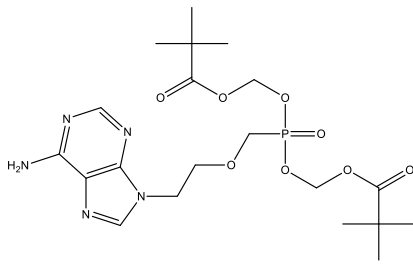
Ademetionina
Tratamiento de enfermedades
del hígado y atrosis



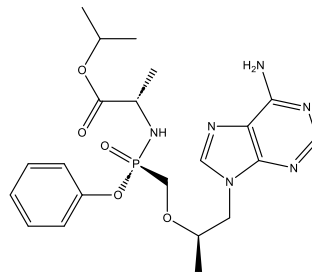
Pentagastrina
Estimula la secreción
de ácido gástrico.



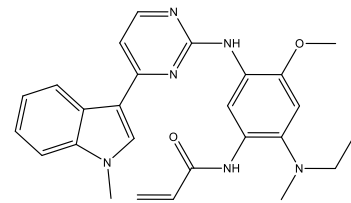
Famciclovir
Tratamiento del
Herpes Zoster



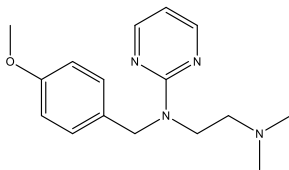
Adefovir Divipo
Tratamiento de la
infección crónica de
Hepatitis B



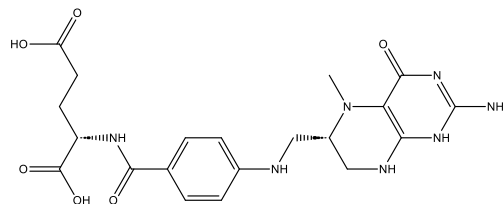
Tenofovir alafenamida
Tratamiento contra la Hepatitis B
y VIH



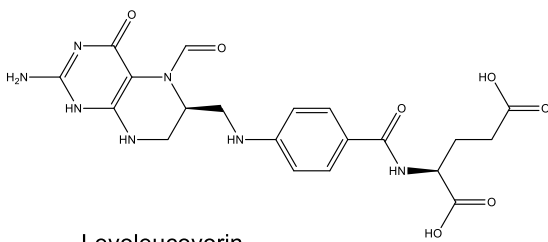
Osimertinib
Tratamiento contra el cáncer
de pulmón



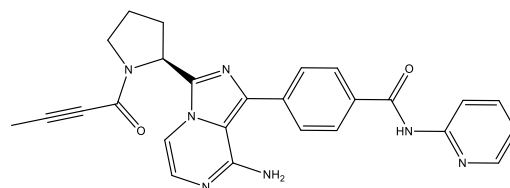
Thonzylamine
Antihistaminico



Ácido levomefólico
Tratamiento de deficiencia de folatos durante el embarazo
y tratamiento de rescate de antagonistas del ácido fólico.

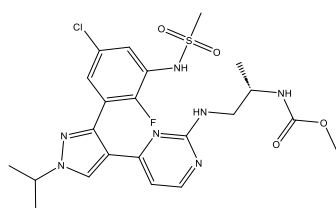


Levoleucovorin
Tratamiento de rescate
por antagonistas del ácido fólico

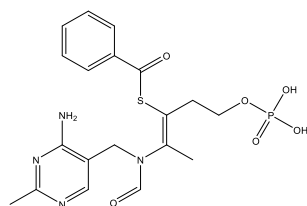


Acalubritinib
Leucemia Linfática
Crónica.

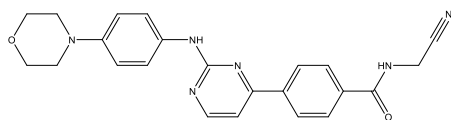
Figura 7.13 Estructura de los fármacos seleccionados junto con su tratamiento original y nombre comercial.



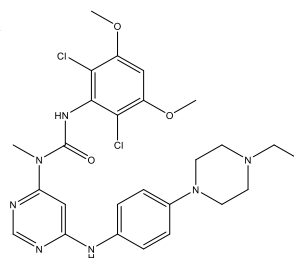
Ecorafenib
Tratamiento contra
el melanoma



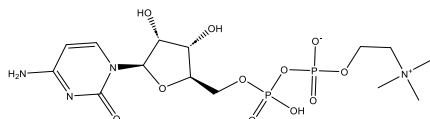
Benfotiamina
Tratamiento contra la
Plineutopatía Diabética



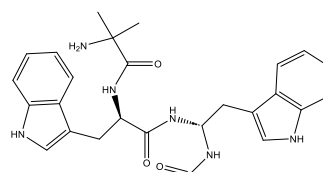
Momelotinib
Tratamiento contra la
mielofibrosis.



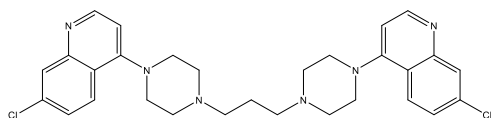
Infigratinib
Tratamiento contra el
Colangiocarcinoma



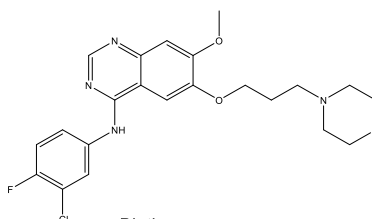
Citicolina
Neuroprotector y nootrópico



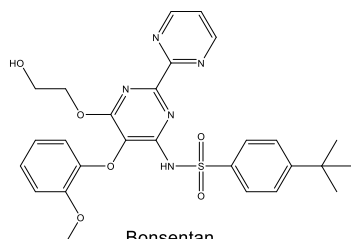
Macimorelin
Tratamiento contra el Déficit
de Hormona del Crecimiento



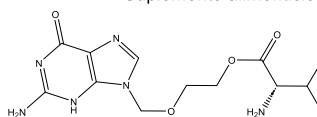
Piperaquina
Antipalúdico



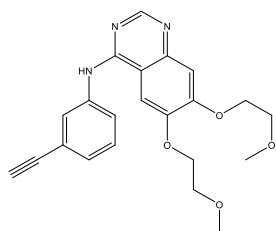
Biotina
Suplemento alimenticio



Bonsentan
Tratamiento contra
la Hipertensión



Valaciclovir
Tratamiento contra el
Herpes y VIH



Erlotinib
Tratamiento contra el
Cáncer de pulmón

Figura 7.14 Estructura de los fármacos seleccionados junto con su tratamiento original y nombre comercial.

7.3 Docking molecular.

El proceso de docking se ha hecho utilizando el software computacional MOE 2022.02 (Molecular Operating Environment).

MOE permite, entre otras funciones, generar conformaciones, definir un farmacóforo, detectar y analizar el sitio activo de proteínas, dibujar superficies moleculares y mapas de densidad electrónica.

Para realizar el proceso de docking (el cual consiste en ver la afinidad de diferentes ligandos en los sitios activos de una proteína) se necesita preparar la proteína en cuestión. En este caso se trabajó con el complejo enzima-ligando **3RCD**

Su proceso de preparación se define a continuación:

- Debido a la complejidad de la proteína, utilizando la herramienta SEQ, se han superpuesto los aminoácidos y se han eliminado las cadenas complementarias para la simplificación. De esta manera nos quedamos solo con un centro activo en la proteína.
- Seguidamente se procede a eliminar los errores que puede tener el complejo utilizando la herramienta QuickPrep, incluyendo también los protones que falten en los residuos de aminoácidos. Usando esta herramienta también se incluyen los protones que no salen en la base PDB de rayos X.
- Se verifica la carga correcta de los heteroátomos.
- Por último, se minimiza la energía utilizando un campo de fuerza. En este caso se usó Amber14:EHT. La minimización consiste en encontrar un conjunto de coordenadas atómicas que concuerde con un mínimo en la función de energía molecular. El gradiente al ser de 0.1 RMS la minimización terminará cuando el gradiente cuadrático medio caiga por debajo de ese valor.

Haciendo esto se consigue definir el centro activo de la HER2 del dominio de la quinasa y su ligando.

Una vez preparada la proteína se procedió a hacer diferentes bases de datos de distintos fármacos aprobados. Para ello se seleccionaron principalmente derivados de quinolina y pirimidina y los que presentasen una estructura similar al ligando de referencia.

En cada una de las bases de datos se tuvieron que preparar los ligandos, para ello primero se hizo una limpieza (eliminación de sales y ajuste en la protonación) y después una minimización de la energía molecular.

Para el proceso del docking se ajustaron una serie de parámetros como el número de poses devueltas (disposiciones aleatorias del ligando), que se ajustó a 3000, el posicionamiento (farmacóforo y *Triangle Matcher*), el criterio de colocación: London dG (estima la energía libre de unión del ligando en una determinada pose), el criterio de refinamiento: GBVI/WSA dG (basado en el campo de fuerza que estima la energía de unión del ligando en una pose concreta) y las poses de colocación (las que pasan a la etapa de refinamiento): 100 y las poses de refinamiento (las poses con mayor afinidad): 10 y Wall constraint: On.

El farmacóforo, que se define como un conjunto de características relacionadas con la configuración espacial y propiedades de los átomos necesarias para asegurar las interacciones con el sitio activo, se hizo utilizando la herramienta de Query editor.

Se seleccionaron las interacciones de ligandos en el centro activo con Met₈₀₁, Lys₇₅₃ y Leu₇₂₆ y se ajustó para que los ligandos interaccionasen con al menos uno de los aminoácidos.

El farmacóforo se pensó para forzar las interacciones con los residuos de aminoácidos esenciales del centro activo del receptor, sin embargo, también se utilizó el método de colocación de *Triangle Matcher* para comparar los resultados obtenidos del farmacóforo con los de este método.

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

8.1 Estructura del sitio activo del HER2

El dominio quinasa del HER2 ha sido caracterizado con varios ligandos. El ligando escogido como referencia fue el **TAK-285**, cuyo complejo enzima ligando en la *Protein Data Bank* (PDB) es el **3RCD**. (figura 8.15)

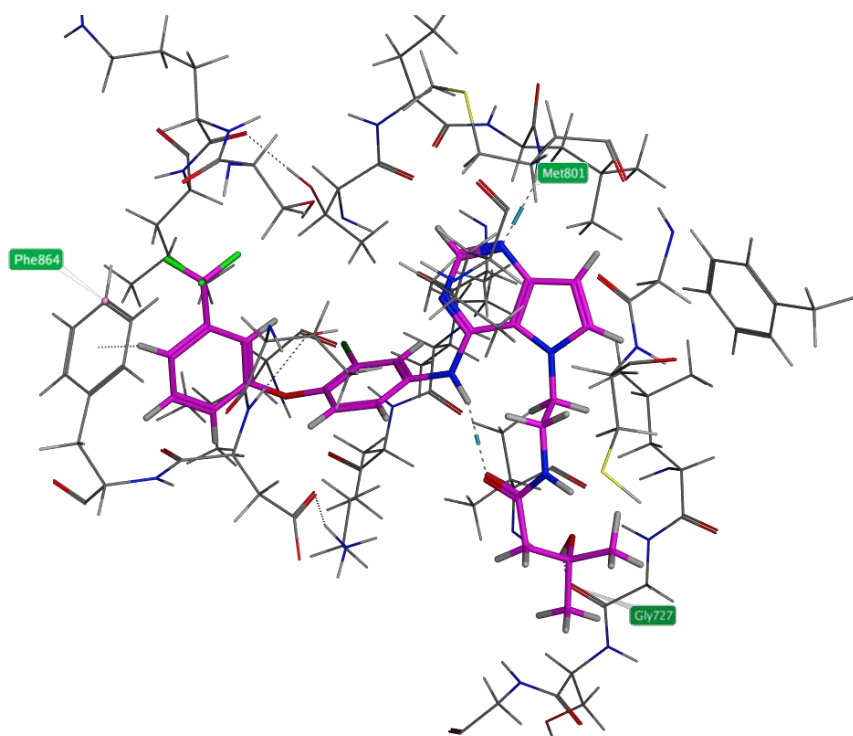


Figura 8.15 Complejo HER2, dominio quinasa del receptor, unido al **Tak-285**

El complejo **3RCD** constituye el dominio de la quinasa del HER2 junto con el inhibidor de referencia indicado anteriormente. Mediante una revisión bibliográfica se ha determinado que los aminoácidos esenciales para que se produzca una actividad antagónica al proceso de autofosforilación son la Met₈₀₁, la Lys₇₅₃ y la Leu₇₂₆. (Son et al., 2023).

Como se puede observar tanto en la figura anterior como en la figura **8.16** el **Tak-285** interacciona mediante enlace de hidrógeno con uno de los ligandos esenciales del centro activo, la Met₈₀₁. Además de que presenta una gran afinidad por el centro activo, presentando una energía de afinidad (parámetro S) de -10.14 Kcal/mol, por lo que se puede entender por qué es tan buen inhibidor.

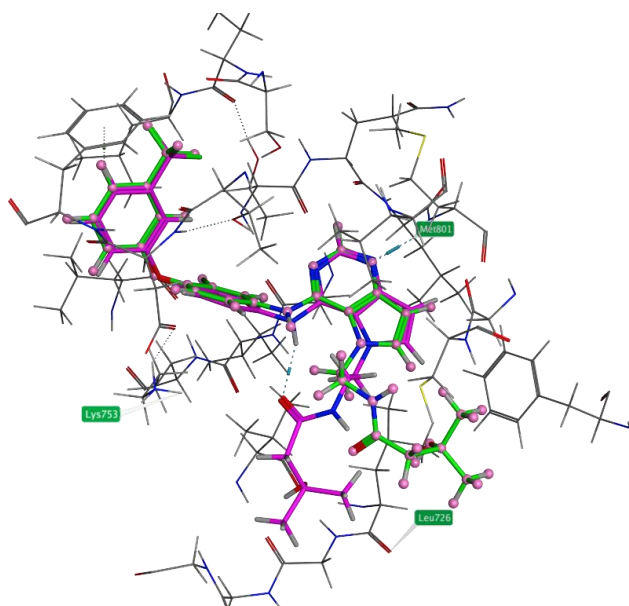


Figura 8.18 comparativa de la pose de referencia con la pose del redocking (*Triangle Matcher*). En morado la pose de referencia y en verde la del redocking.

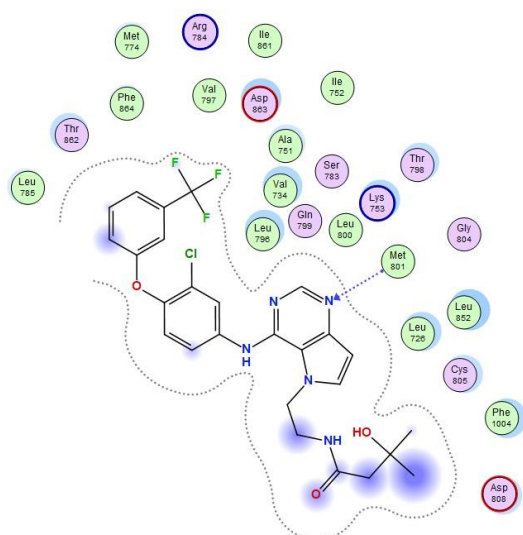


Figura 8.19 Interacciones del ligando con la pose del redocking, donde la línea azul es un enlace de hidrógeno

En cuanto a la metodología con el farmacóforo, la pose da un valor de S de -10.19 Kcal/mol (ya minimizada) y un valor de rmsd de 0.680. El valor S afinidad es menor que con respecto al *Triangle Matcher*, pero es más cercano al valor original y que tenga un valor de rmsd más cercano a 0 indica que hay más parecido geométrico entre la pose de referencia y la del redocking.

En cuanto a las interacciones pasa lo más o menos lo mismo que con el método de *Triangle Matcher*. Se conserva la interacción con el residuo de Met₈₀₁, pero se pierden las otras dos interacciones.

En las figuras 8.20 y 8.21 se pueden observar la comparación de la pose de referencia con la pose del redocking y las interacciones de con los residuos de aminoácido de esta última.

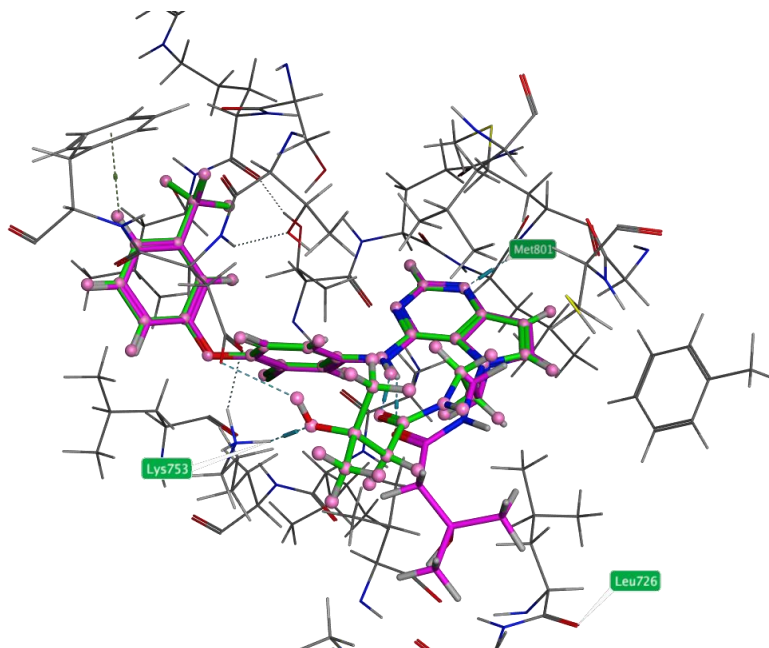


Figura 8.20 comparativa de la pose de referencia con la pose del redocking (farmacóforo). En morado la pose de referencia y en verde la del redocking.

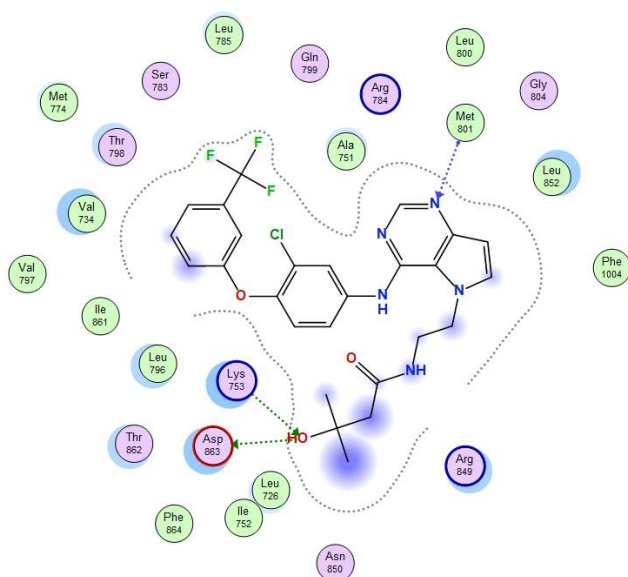


Figura 8.21 Interacciones del ligando con la pose del redocking, donde las líneas azules son enlaces de hidrógeno con el esqueleto del aminoácido y las líneas verdes son enlaces de hidrógeno con el grupo R del aminoácido.

Ambos métodos son buenos debido a que presentan un parecido notable con la referencia, por tanto, en este estudio se usarán sendos métodos para analizar cada fármaco listado en el apartado de materiales y métodos.

8.2 Estudio *in-silico*. Modelización molecular (docking).

Como ya se comentó anteriormente en el apartado 7, se va a probar mediante simulación computacional la efectividad de una serie de fármacos, aprobados por la *Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA)*, como inhibidores del HER2.

Los parámetros que, principalmente, se evaluarán en este estudio son la energía de afinidad o parámetro S (Kcal/mol) y las interacciones y sus energías (Kcal/mol) con los aminoácidos esenciales del centro activo.

Se aplicarán las condiciones ya mencionadas en el apartado de 8. El farmacóforo que se usará, será el mismo que el mostrado en el subapartado anterior, y se compararán los resultados proporcionados por este, con los resultados proporcionados por el método de *Triangle Matcher*. De esta forma se puede reforzar un ligando como potencial inhibidor.

8.2.1 Estudio *in-silico* de los fármacos seleccionados.

Conociendo la metodología utilizada para el estudio, se procede a exponer los resultados obtenidos tras las simulaciones computacionales realizadas. Primero se analizarán los resultados de los fármacos mostrados en la imagen **7.13**.

Se mostrarán las afinidades y las interacciones con los aminoácidos esenciales del centro activo, primero por el método de farmacóforo y luego por *Triangle Matcher*.

Con respecto a los valores de afinidad mostrados en la figura **8.22**, se puede apreciar como todos menos *Thonzylamine*, presentan buenos valores de afinidad por el centro activo, ya que para que un valor de S se considere bueno, este tiene que ser -7 Kcal/mol o más negativo.



Figura 8.22 valores de S minimizados, obtenidos mediante farmacóforo vs el valor de S de referencia.

En cuanto a los valores de S dados por el método de *Triangle Matcher*, se ve una clara tendencia a ser más negativos, es decir, a presentar mejor afinidad por el centro activo. Las afinidades se presentan en la figura 8.23.

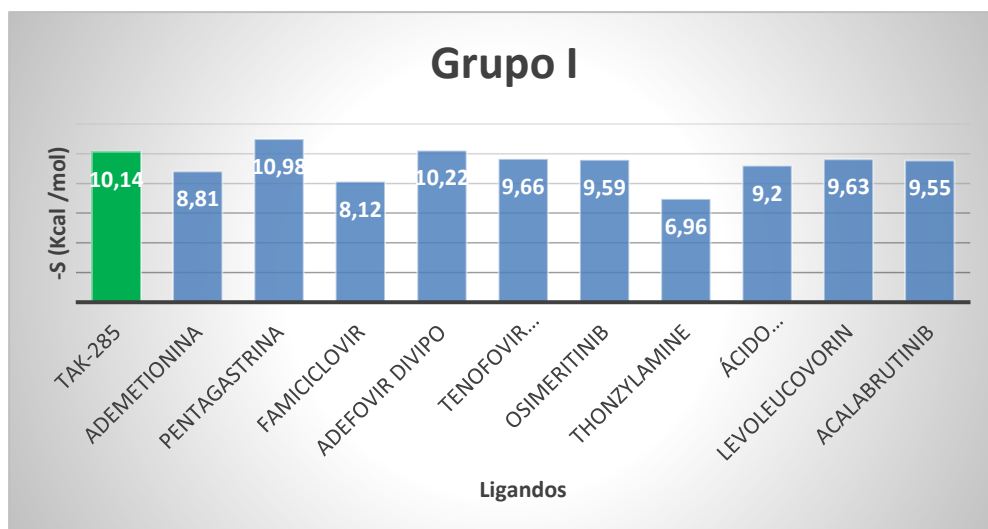


Figura 8.23 valores de S minimizados, obtenidos mediante *Triangle Matcher* vs el valor de S de referencia.

Esto se puede deber a que, utilizando este método, los ligandos se posicionan en el centro activo sin restricciones espaciales, dando poses con mayor afinidad que si se usase el farmacóforo.

A continuación, se analizarán las interacciones de los fármacos, con los residuos de aminoácidos del centro activo, proporcionadas por el farmacóforo. Primero se comenzará con *Ademetionina* y *Pentagastrina*.

Ademetionina interacciona mediante enlaces de hidrógeno con la Met₈₀₁ mediante su nitrógeno pirimidínico, como lo hace el ligando de referencia y, con el residuo de Lys₇₅₃, mediante un puente de hidrógeno con el grupo R del aminoácido y el grupo carboxilo del ligando, interaccionando de esta forma con dos aminoácidos esenciales del centro activo.

Pentagastrina interacciona con los dos aminoácidos esenciales, sin embargo, lo hace de manera diferente a *Ademetionina*. *Pentagastrina* interacciona con el residuo de Met₈₀₁ mediante enlaces de hidrógeno con el N del grupo amida y con el carbonilo del mismo grupo. Todo esto se puede ver en la figura 8.24.

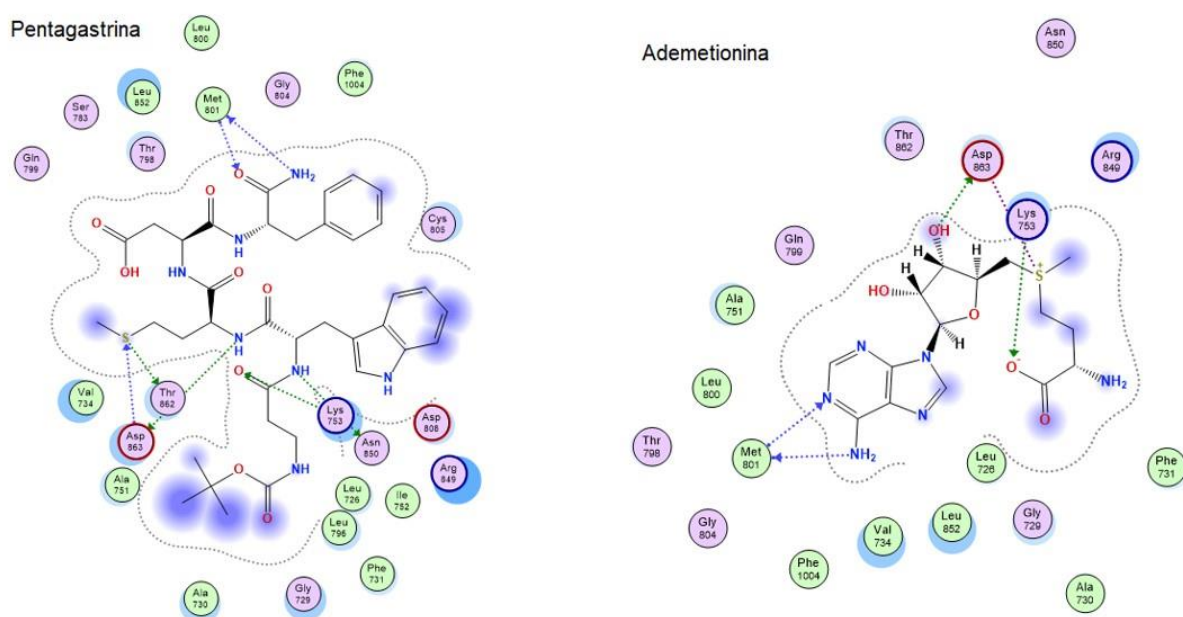


Figura 8.24 Interacciones de la *Pentagastrina* y *Ademetionina*, obtenidas mediante farmacóforo, con los aminoácidos del sitio activo. Donde las líneas azules son enlaces de hidrógeno con el esqueleto del aminoácido y las verdes son enlaces de hidrógeno con los grupos R del aminoácido.

Utilizando el método de *Triangle Matcher*, *Ademetionina* interacciona con el residuo de Met₈₀₁ de manera muy similar a lo obtenido con el farmacóforo, aunque el que interacciona con la Lys₇₅₃ es un grupo hidroxilo en lugar del grupo carboxilo como se ha visto en la figura anterior, debido a la distinta disposición espacial. En la figura 8.25 se puede ver una comparación de la disposición espacial que ocupa el ligando.

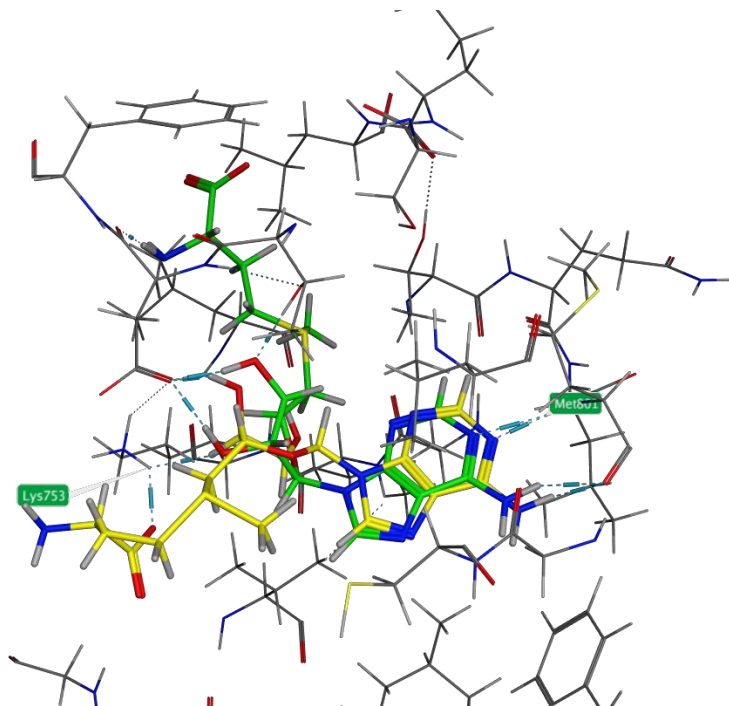


Figura 8.25 Ademetionina farmacóforo (amarillo) vs Ademetionina Triangle Matcher (verde).

Sin embargo, *Pentagastrina* interacciona de manera muy diferente al utilizar *Triangle Matcher*. Como se ve en la figura 8.26 *Pentagastrina* ya no interacciona con el residuo de Met₈₀₁ y su interacción con el de Lys₇₅₃ consiste en un enlace de hidrógeno entre el grupo R del aminoácido y el azufre del tioéter.

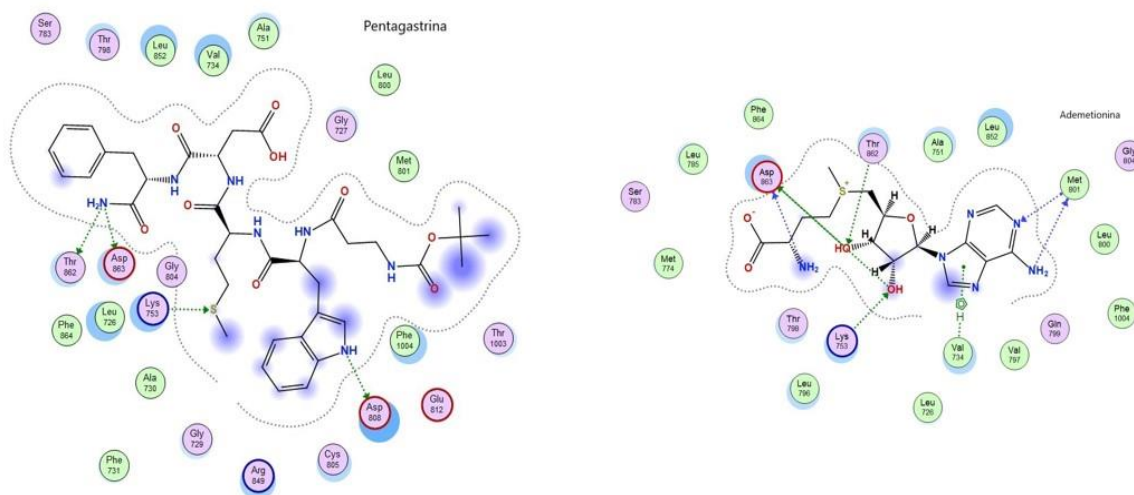
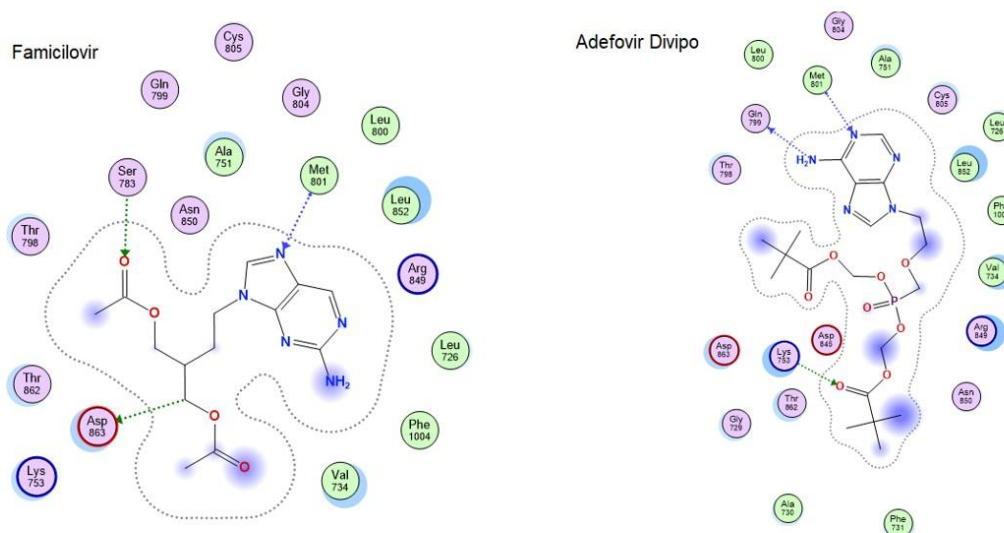


Figura 8.26 Interacciones de Ademetionina y Pentagastrina, obtenidas mediante *Triangle Matcher*, siendo las líneas azules enlaces de hidrógeno con el esqueleto del aminoácido y las líneas verdes enlaces de hidrógeno con los grupos R del aminoácido.

Famicyclovir y *Adefovir Divipo* interaccionan de manera similar al ligando de referencia, con el residuo de Met₁₈₀₁, estableciendo enlaces de hidrógeno entre los nitrógenos del heterociclo y el esqueleto del aminoácido, tal y como se muestra en la figura **8.27**.



Sin embargo, las interacciones con *Triangle Matcher* para estos dos fármacos difieren mucho de las obtenidas con farmacóforo. *Adefovir Divipo* interacciona con el residuo de Met₈₀₁ con uno de los dos grupos carbonilos de los ésteres y *Famciclovir* con el residuo de Lys₇₅₃. Esto se puede ver en la figura **8.28**.

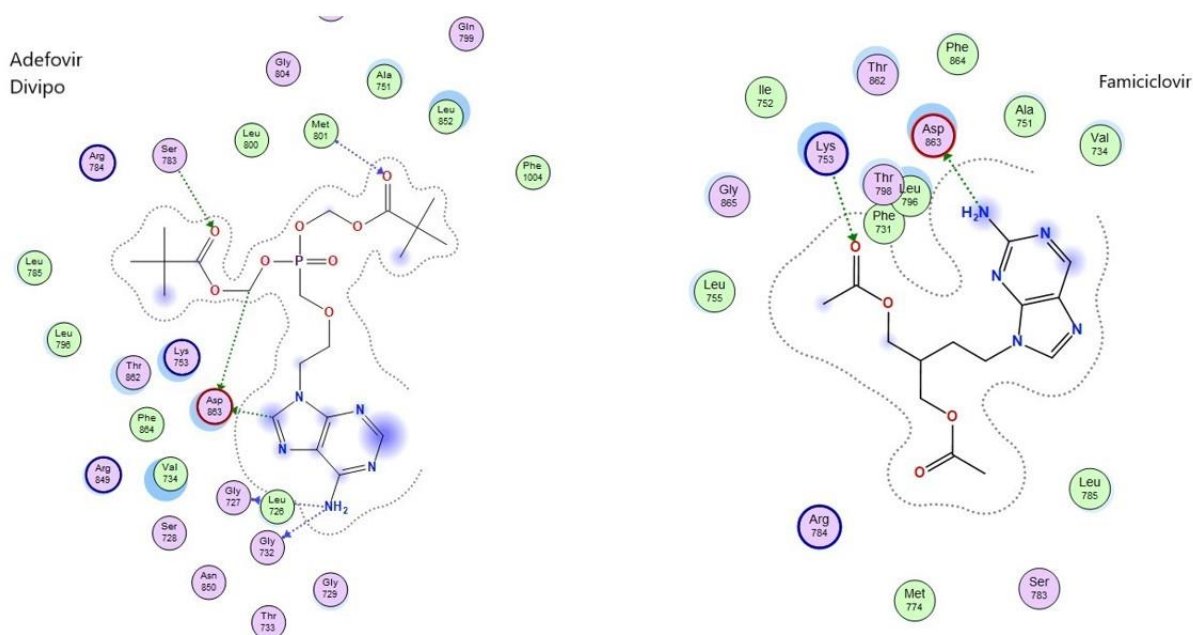


Figura 8.28 Interacciones *Adefovir Divipo* y *Famciclovir*, obtenidas mediante *Triangle Matcher*. Líneas azules son enlaces de hidrógeno con el esqueleto del aminoácido y las verdes con el grupo R.

Ahora se analizarán las interacciones proporcionadas por el farmacóforo de *Tenofovir Alafenamide* y *Osimertinib*. *Tenofovir Alafenamide* interacciona con el residuo de Met₈₀₁, también, de manera similar al ligando de referencia, estableciendo un enlace de hidrógeno por el N pirimidínico.

Por el contrario, *Osimertinib* no interacciona, como cabría esperar, con el aminoácido de Met₈₀₁. Sin embargo, interacciona con el residuo de Lys₇₅₃ mediante otro enlace de hidrógeno. Se puede ver a continuación en la figura **8.29**.

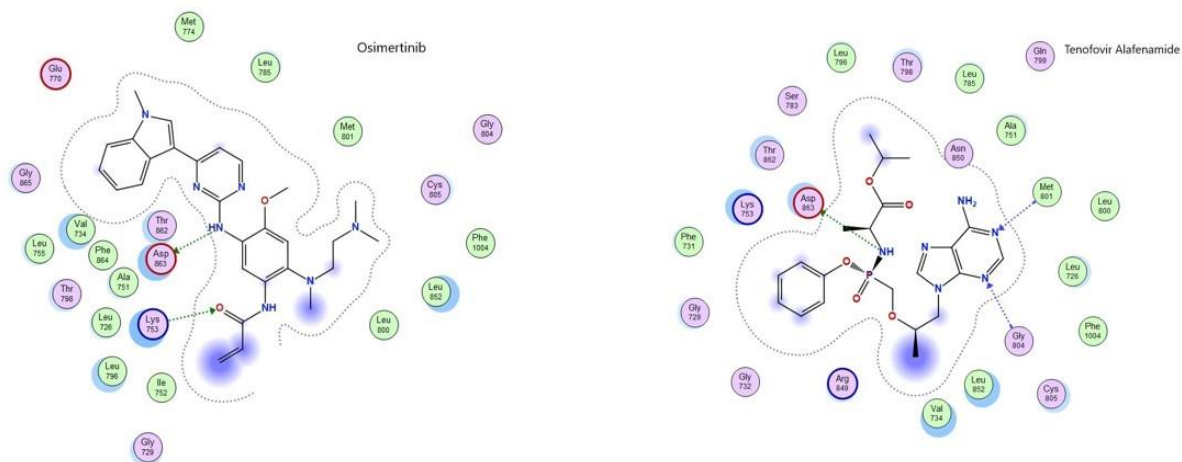


Figura 8.29 Interacciones *Osimertinib* y *Tenofovir Alafenamide*, obtenidas mediante farmacóforo. Líneas azules son enlaces de hidrógeno con el esqueleto del aminoácido y las verdes con el grupo R

Usando *Triangle Matcher* se obtiene para *Tenofovir Alafenamide* una disposición espacial diferente, pero sigue interaccionando de manera similar con el residuo de Met₈₀₁, reforzando así su posible uso como inhibidor.

Con *Osimertinib* ocurre prácticamente lo mismo, pero tiene una disposición espacial similar, e interacciona de la misma forma con el aminoácido de Lys₇₅₃, reforzando su posible uso como inhibidor.

En la figura **8.30**, se pueden ver las diferentes interacciones, usando este método para estos ligandos y en las figuras **8.31** y **8.32** se pueden ver las comparaciones en las disposiciones espaciales de cada uno de los ligandos.

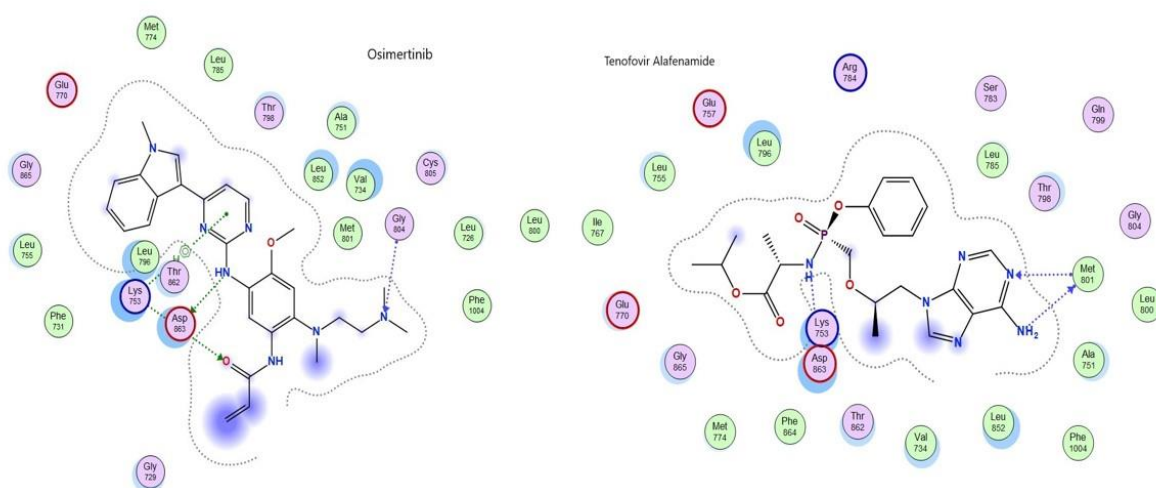


Figura 8.30 Interacciones *Osimertinib* y *Tenofovir Alafenamide*, obtenidas mediante *Triangle Matcher*. Líneas azules son enlaces de hidrógeno con el esqueleto del aminoácido, las líneas verdes punteadas enlaces de hidrógeno con el grupo R y las líneas verdes no punteadas, interacciones areno-H.

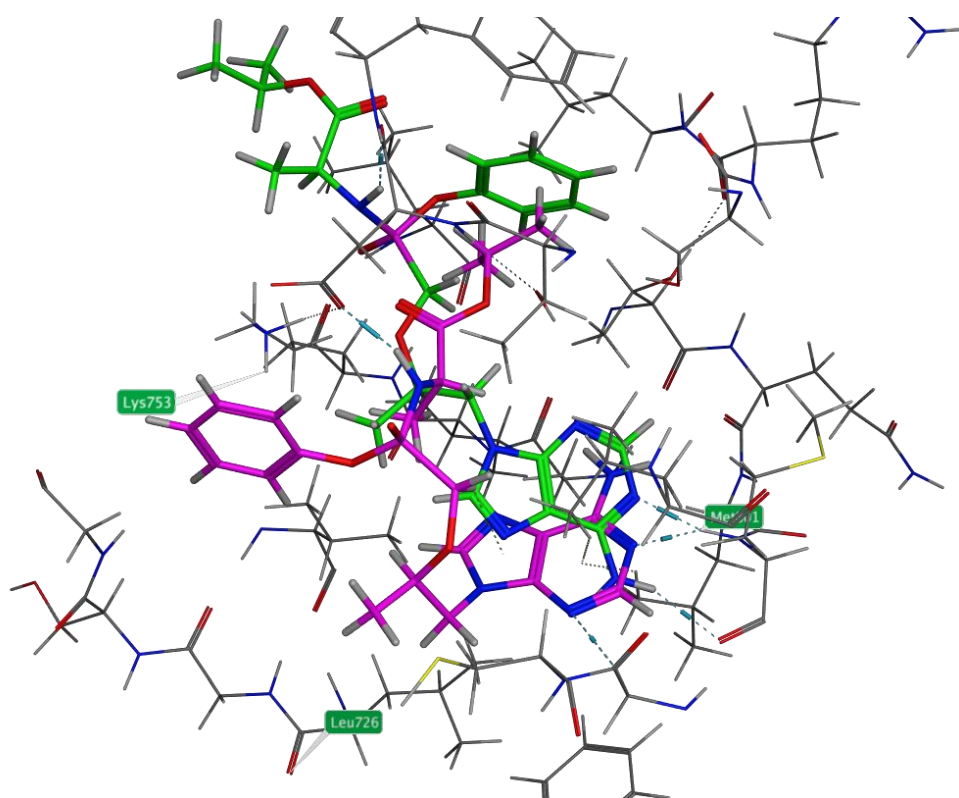


Figura 8.31 Comparativa de las poses de *Tenofovir Alafenamide* obtenidas mediante farmacóforo (morado) y TM (verde)

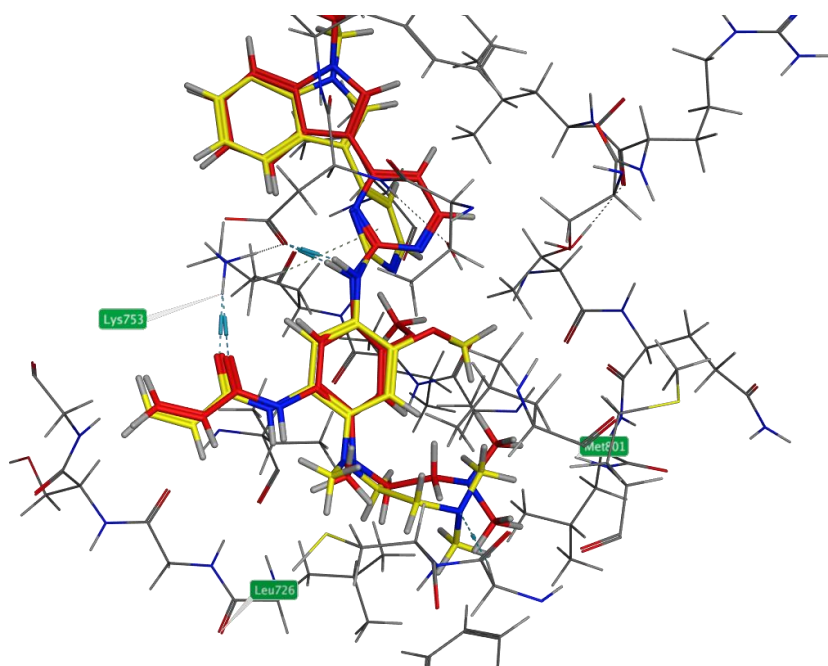


Figura 8.32 Comparativa de las poses de *Osimertinib* obtenidas mediante farmacóforo (rojo) y *Triangle Matcher* (amarillo)

Ahora se analizarán las interacciones de *Thonzylamine* y *Acalabrutinib* obtenidas mediante el farmacóforo. *Thonzylamine* interacciona con el residuo de Lys₇₅₃ mediante enlace de hidrógeno con el N del grupo amino.

Acalabrutinib interacciona de manera similar a la referencia con el residuo de Met₈₀₁, estableciendo un enlace de hidrógeno con el N pirimidínico. En la figura **8.33** se pueden observar las interacciones.

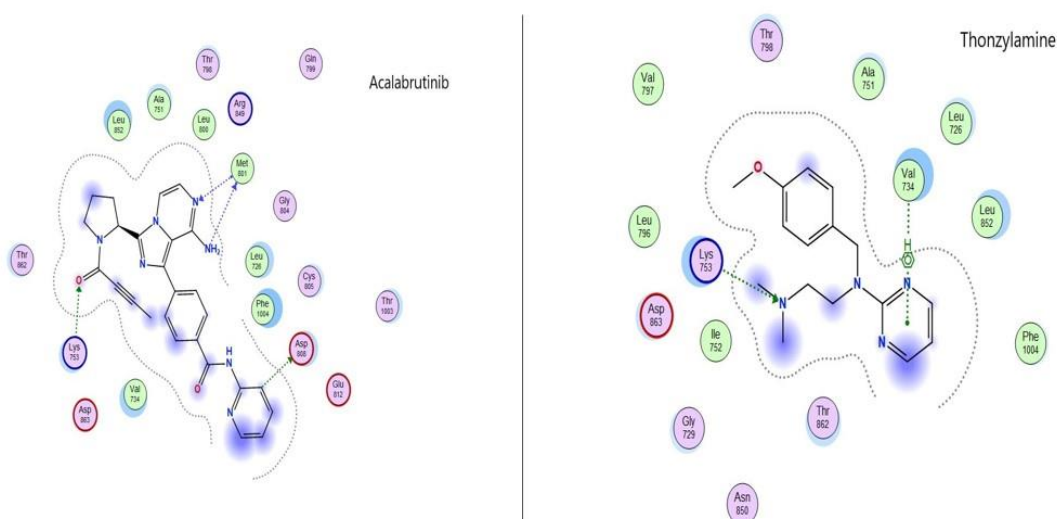


Figura 8.33 Interacciones *Acalabrutinib* y *Thonzylamine*, obtenidas mediante farmacóforo. Líneas azules son enlaces de hidrógeno con el esqueleto del aminoácido, las líneas verdes punteadas enlaces de hidrógeno con el grupo R y las líneas verdes no punteadas, interacciones areno-H.

Utilizando *Triangle Matcher*, Thonzlyamine no interacciona con ningún aminoácido del centro activo, por lo que, sumado a su baja afinidad, se puede descartar como inhibidor.

Por el contrario, *Acalabrutinib* sigue interaccionando de manera similar, con el residuo de Met₈₀₁, como lo visto en la figura 8.33, pudiendo ser un potencial inhibidor. En la figura 8.34 se pueden ver las interacciones de los dos ligandos.

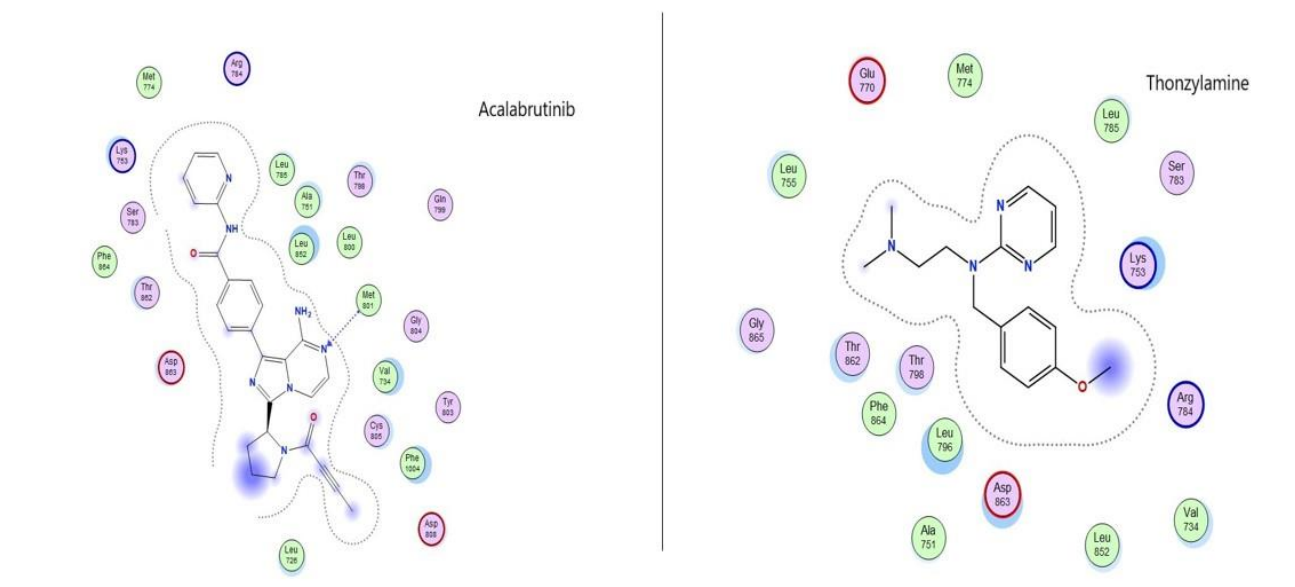


Figura 8.34 Interacciones *Acalabrutinib* y *Thonzlyamine*, obtenidas mediante *Triangle Matcher*. Líneas azules son enlaces de hidrógeno con el esqueleto del aminoácido, las líneas verdes punteadas enlaces de hidrógeno con el grupo R y las líneas verdes no punteadas, interacciones areno-H.

Y en la figura 8.35 se puede ver una comparación de las poses del *Acalabrutinib* obtenidas mediante farmacóforo y *Triangle Matcher*.

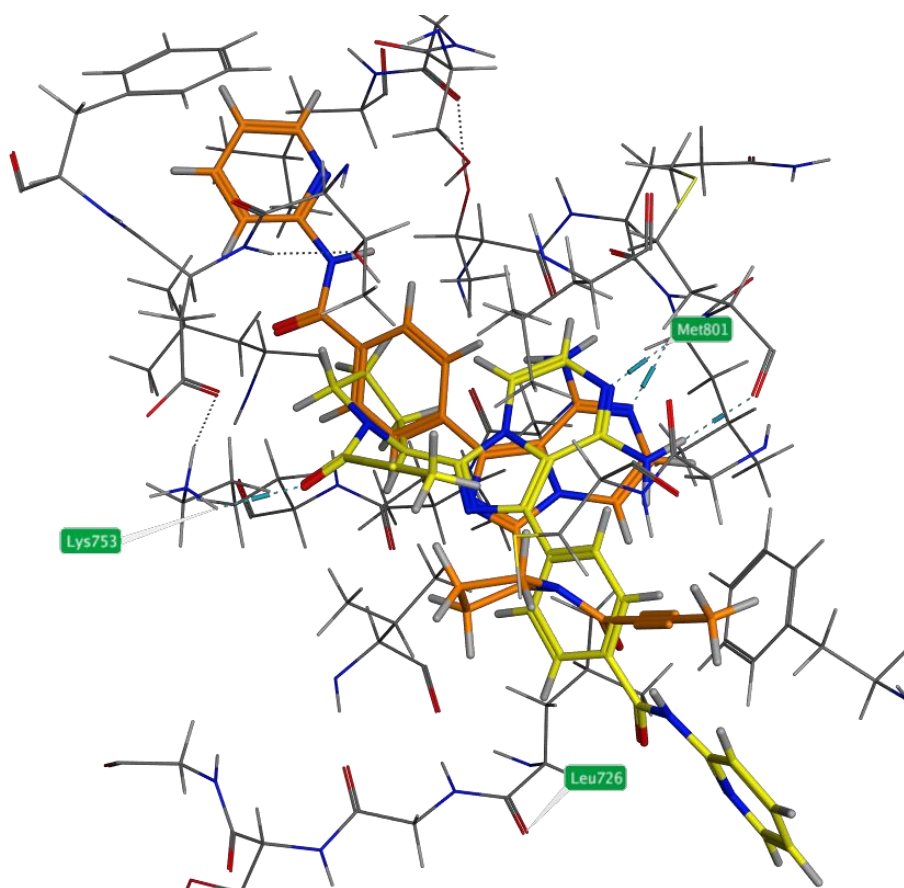


Figura 8.35 Comparativa de las poses de *Acalabrutinib* obtenidas mediante farmacóforo (amarillo) y *Triangle Matcher* (naranja)

Para finalizar el grupo I, se evaluarán las interacciones del *Ácido Levomefólico* y *Levoleucovorin* y se adjuntará una tabla con las energías de interacción de cada aminoácido.

Primero se evaluarán las interacciones, de los dos últimos ligandos de este grupo, obtenidas mediante el farmacóforo.

Estos ligandos pese a ser estructuralmente muy parecidos, interaccionan de manera muy diferente con los aminoácidos esenciales. *Ácido Levomefólico*, interacciona mediante enlace de hidrógeno entre el N básico del heterociclo y el residuo de Met₈₀₁. (Parecido al ligando de referencia).

Sin embargo, *Levoleucovorin* interacciona con el residuo de Met₈₀₁ mediante un enlace de hidrógeno entre este y un grupo carboxilo. Esto se ve en la figura 8.36.

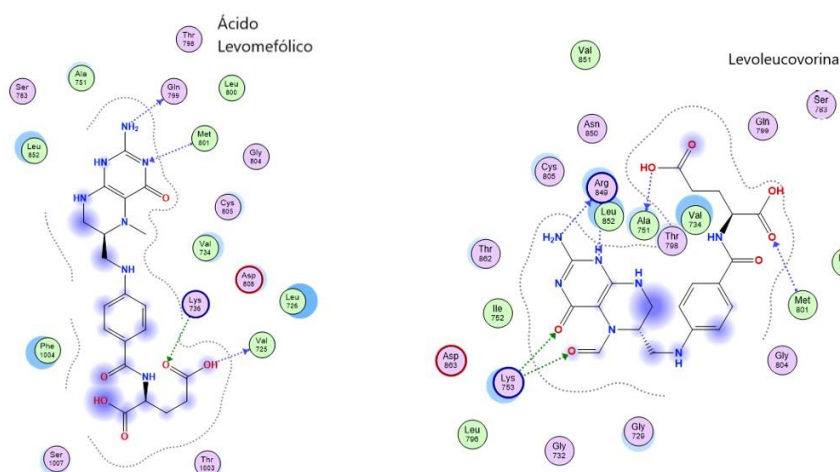


Figura 8.36 Interacciones *Ácido Levomefólico* y *Levoleucovorin*, obtenidas mediante farmacóforo. Líneas azules son enlaces de hidrógeno con el esqueleto del aminoácido, las líneas verdes punteadas enlaces de hidrógeno con el grupo R y las líneas verdes no punteadas, interacciones areno-H.

En el caso del método de *Triangle Matcher*, hay diferencias en como interaccionan los ligandos. *Ácido Levomefólico* sigue interaccionando con los aminoácidos de Lys753 y Met801 mediante enlaces de hidrógeno, pero con grupos diferentes.

Sin embargo, *Levoleucovorin* sigue interaccionando con el residuo de Met801, aunque con un grupo distinto, pero no interacciona con el aminoácido de Lys753. Esto es observable en la figura 8.37.

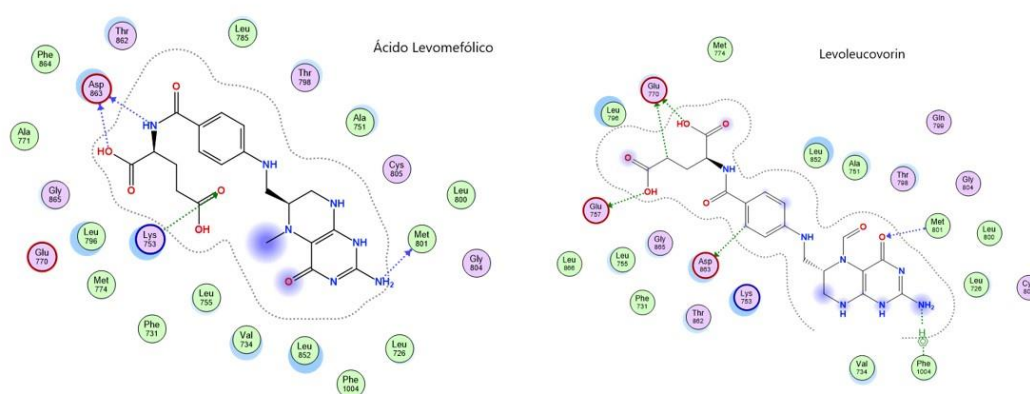


Figura 8.37 Interacciones *Ácido Levomefólico* y *Levoleucovorin*, obtenidas mediante *Triangle Matcher*. Líneas azules son enlaces de hidrógeno con el esqueleto del aminoácido, las líneas verdes punteadas enlaces de hidrógeno con el grupo R y las líneas verdes no punteadas, interacciones areno-H.

Por último, se mostrarán en las tablas **8.1** y **8.2** las energías de interacción de cada ligando con los aminoácidos esenciales.

Tabla 8.1 Energías de interacción dadas con farmacóforo.

Ligando	Met ₈₀₁ dador (Kcal/mol)	Met ₈₀₁ aceptor (Kcal/mol)	Lys ₇₅₃ (Kcal/mol)	Leu ₇₂₆ (Kcal/mol)	S(Kcal/mol)
Ademetionina	-3.0	-5.0	-18.1		-7.87
Pentagastrina	-2.9	-4.0	-3.5		-11.18
Famciclovir		-5.6			-7.37
Adefovir Divipo		-5.4	-2.8		-8.93
Tenofovir alafenamide		-2.3			-8.97
Osimertinib			-11.1		-9.88
Acalabrutinib	-2.7	-4.8	-9.0		-9.12
Thonzylamine			-12.5		-6.59
Ácido levomefólico		-4.8	-4.0		-7.53
Levoleucovorin		-3.4	-5.5		-7.87

Tabla 8.2 Energías de interacción dadas por *Triangle Matcher*.

Ligando	Met ₈₀₁ dador (Kcal/mol)	Met ₈₀₁ aceptor (Kcal/mol)	Lys ₇₅₃ (Kcal/mol)	Leu ₇₂₆ (Kcal/mol)	S(Kcal/mol)
Ademetionina	-3.0	-4.2	-1.5		-7.87
Pentagastrina			-6.9		-10.98
Famciclovir			-0.8		-8.12
Adefovir Divipo		-3.3			-10.22
Tenofovir alafenamide	-1.9	-5.2			-9.66

Osimertinib		-12.2	-9.59
Acalabrutinib	-5.1		-9.55
Thonzylamine			-6.96
Ácido levomefólico	-3.8	-8.2	-9.2
Levoleucovorin	-4.2	-6.2	-9.63

En vista de todos los datos expuestos, los ligandos con más posibilidades de poder reposicionarse como inhibidores del HER2 son *Ademetionina*, *Pentagastrina* (aunque presente diferencias entre ambos métodos, tiene la afinidad más alta), *Adefovir Divipo*, *Famciclovir*, *Acalabrutinib* y *Osimertinib*.

No selecciono con seguridad a *Ácido Levomefólico* y *Levoleucovorin* como inhibidores debido a las grandes diferencias en los datos obtenidos por los métodos usados.

Ahora se repetirá la misma metodología para evaluar a los ligandos de la figura 7.14. Primero, al igual que con el grupo I, se evaluarán el parámetro S de cada ligando, primero para el método de farmacóforo, y luego, para *Triangle Matcher*.

En este grupo no hay ningún ligando que, usando farmacóforo, tenga mayor S que el ligando de referencia, aunque los ligandos presentan, también, buenas afinidades. Se puede comprobar en la figura 8.38.

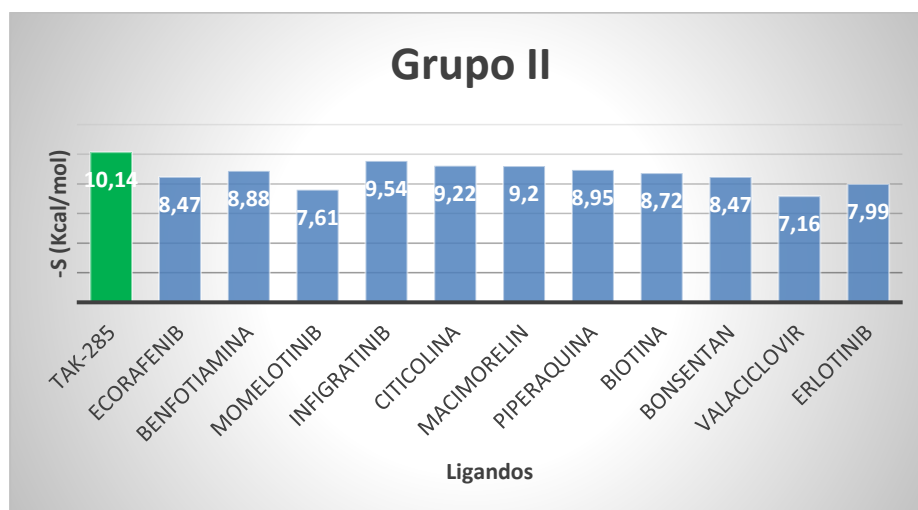


Figura 8.38 Valores de S de los ligandos del grupo II obtenidos mediante farmacóforo.

Usando el otro método, los valores de S tienden a aumentar como ya se vio con el grupo I y, además hay ligandos que superan al parámetro S de referencia. Esto puede

ocurrir por lo mismo que se comentó anteriormente para el grupo I. Los valores S obtenidos por *Triangle Matcher* se observan en la figura 8.39.

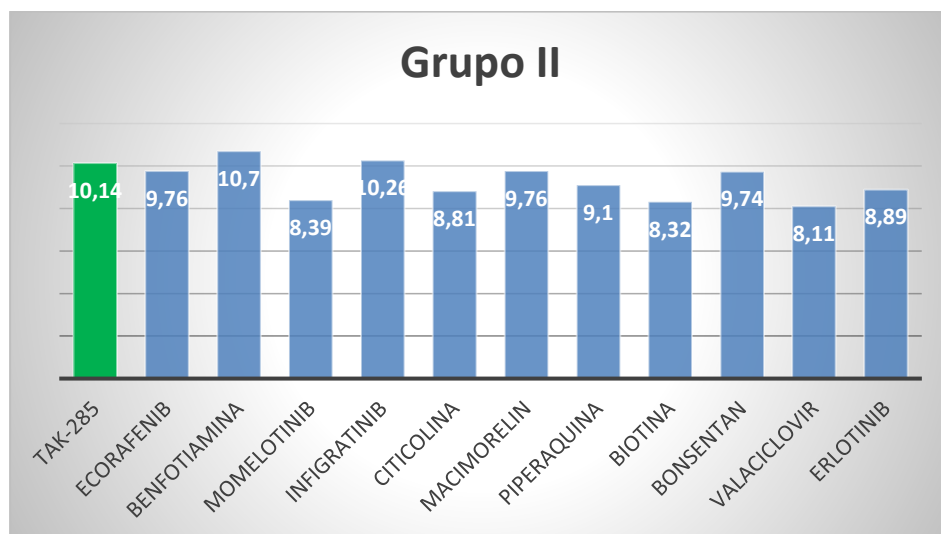


Figura 8.39 Valores de S obtenidos mediante *Triangle Matcher*.

Ahora se procederá a evaluar las interacciones de los ligandos de este grupo, empezando por *Ecorafenib* y *Benfotiamina*.

Ecorafenib y *Benfotiamina*, usando farmacóforo, interaccionan con los aminoácidos de Met₈₀₁ y Lys₇₅₃ mediante enlaces de hidrógeno como se puede observar en la figura 8.40.

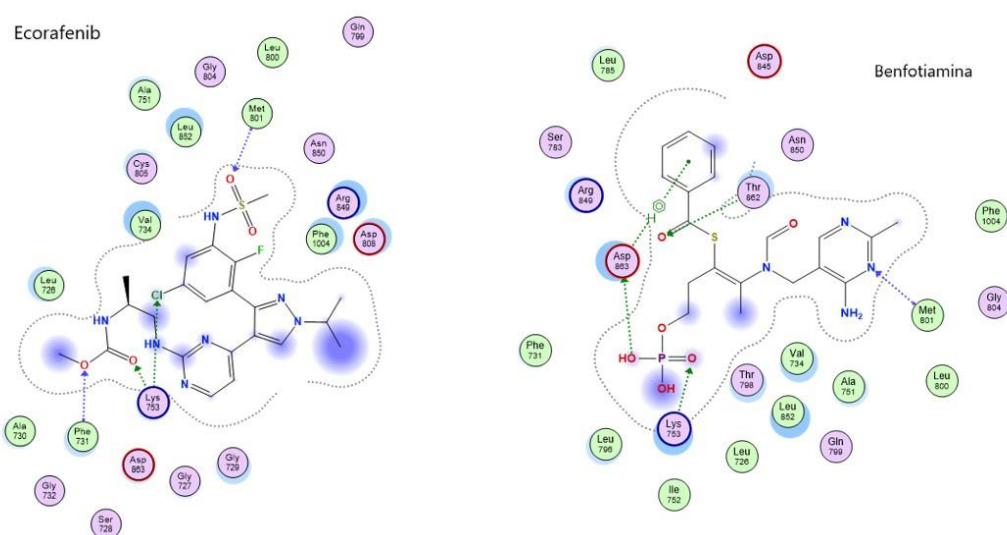


Figura 8.40 Interacciones *Ecorafenib* y *Benfotiamina*, obtenidas mediante farmacóforo. Líneas azules son enlaces de hidrógeno con el esqueleto del aminoácido, las líneas verdes punteadas enlaces de hidrógeno con el grupo R y las líneas verdes no punteadas, interacciones areno-H.

Utilizando el otro método, el ligando que varía es *Ecorafenib* que ya no interacciona con el residuo de Met₈₀₁. *Benfotiamina*, sin embargo, presenta una disposición espacial muy similar a la obtenida por farmacóforo, como se ve en las figuras 8.41 y 8.42.

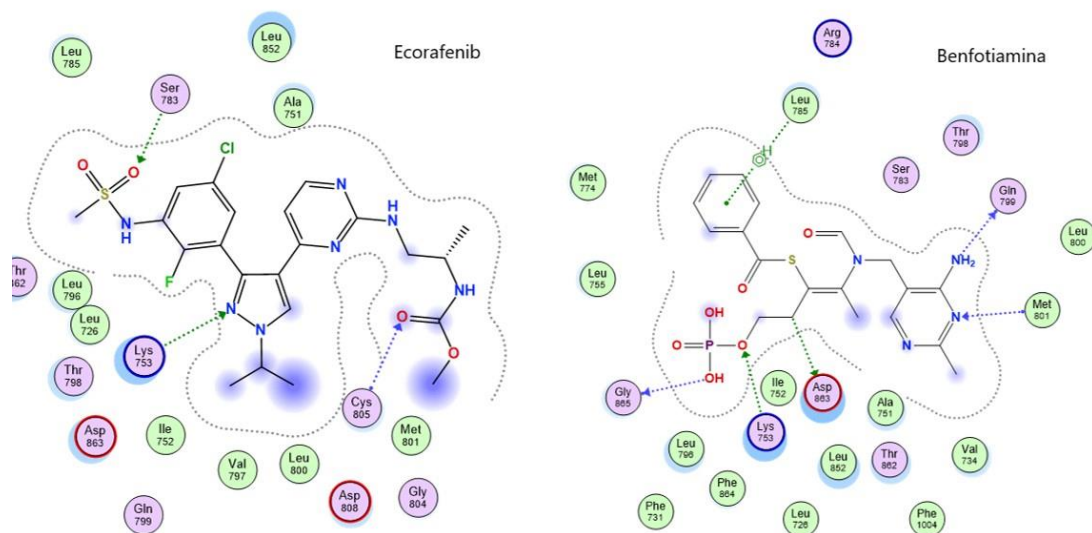


Figura 8.41 Interacciones *Ecorafenib* y *Benfotiamina*, obtenidas mediante *Triangle Matcher*. Líneas azules son enlaces de hidrógeno con el esqueleto del aminoácido, las líneas verdes punteadas enlaces de hidrógeno con el grupo R y las líneas verdes no punteadas, interacciones areno-H.

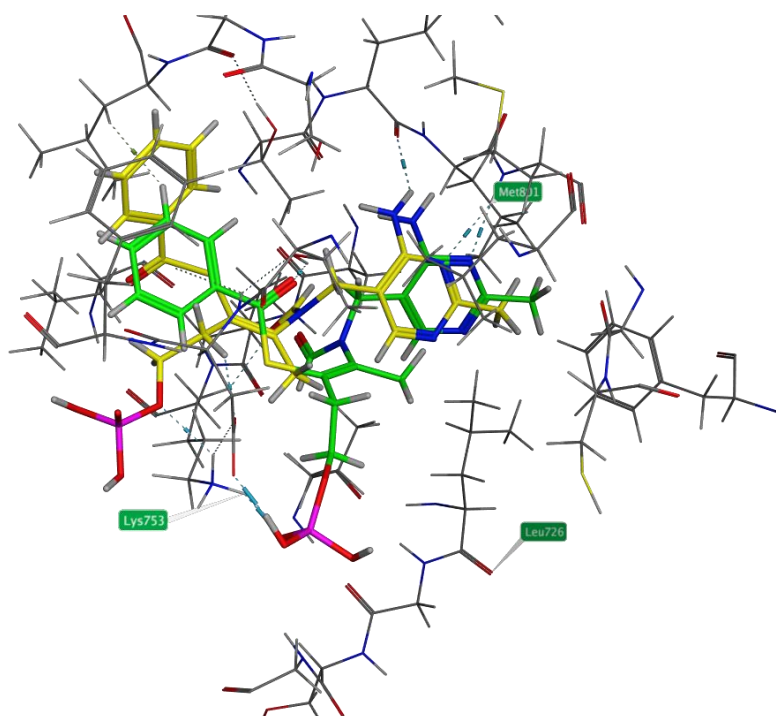


Figura 8.42 Comparativa entre la pose de *Benfotiamina* obtenida por Farmacóforo (verde) y *Triangle Matcher* (amarillo).

En vista de los anteriormente visto, ambos pueden ser potenciales inhibidores, incluso *Ecorafenib*, aunque presente diferencias a la hora de usar un método u otro, porque sigue interaccionando con uno de los aminoácidos esenciales.

Los siguientes ligandos que se evaluarán son *Momelotinib* e *Infigratinib*. Usando farmacóforo, *Momelotinib* e *Infigratinib* interaccionan con el residuo de Met₈₀₁ con el N pirimidínico mediante un enlace de hidrógeno, como lo hace **Tak-285**, tal y como se muestra en la figura **8.43**.

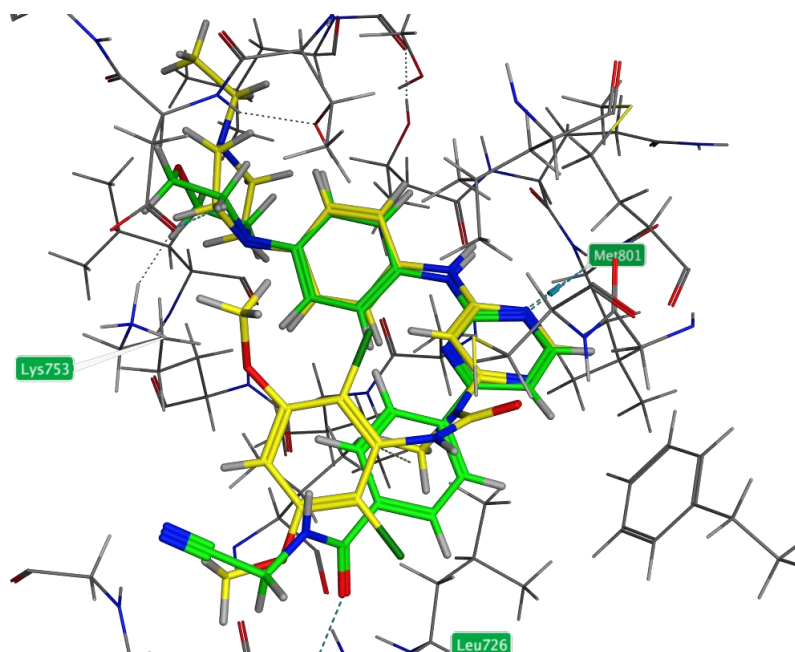


Figura 8.43 *Momelotinib* (verde) vs *Infigratinib* (amarillo).

Utilizando el otro método, las interacciones entre los ligandos no se parecen en nada y tienen disposiciones espaciales completamente distintas que cuando se usa el farmacóforo.

Ambos ligandos interaccionan con el residuo de Lys₇₅₃ en vez de con el de met₈₀₁, tal y como se ve en la figura **8.44**.

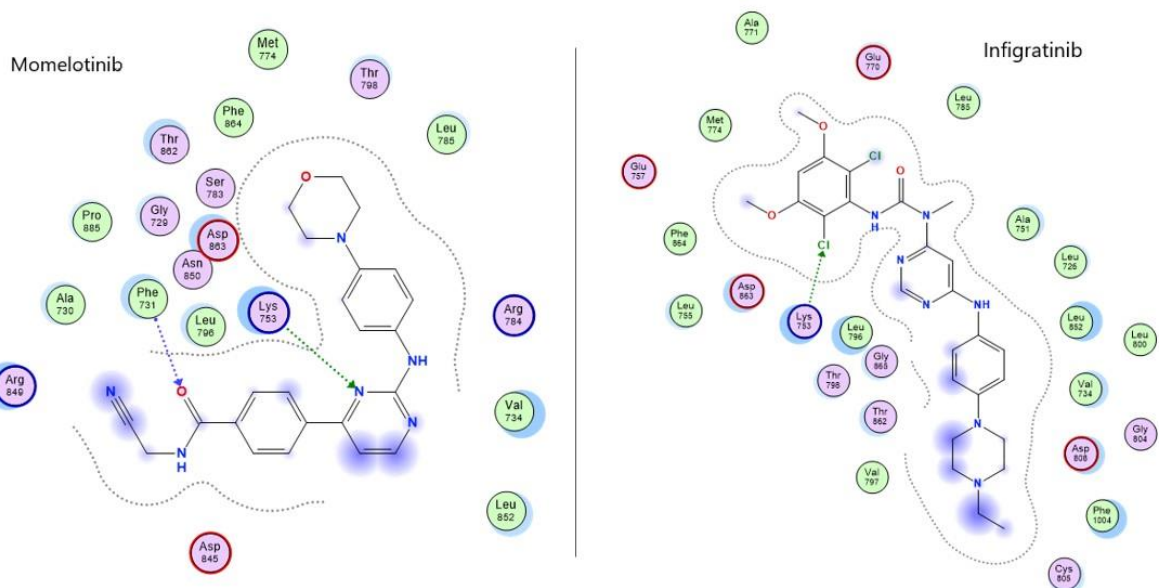


Figura 8.44 Interacciones *Momelotinib* e *Infigratinib*, obtenidas mediante *Triangle Matcher*. Líneas azules son enlaces de hidrógeno con el esqueleto del aminoácido, las líneas verdes punteadas enlaces de hidrógeno con el grupo R y las líneas verdes no punteadas, interacciones areno-H.

Aunque haya diferencias notables entre ambos métodos, las poses obtenidas con farmacóforo y *Triangle Matcher* tienen una diferencia de energía muy pequeña (inferior a 1 Kcal/mol). Por tanto, es muy posible que las poses más probables para ambos ligandos sean las del farmacóforo y que estos ligandos puedan ser potenciales inhibidores.

Los siguientes ligandos que se evaluarán son *Citicolina* y *Macimorelin*. Con farmacóforo, ambos interaccionan mediante enlaces de hidrógeno con Lys₇₅₃ y Met₈₀₁, aunque de manera distinta por la diferente disposición espacial y a su diferente estructura. Las interacciones se ven en la figura **8.45**.

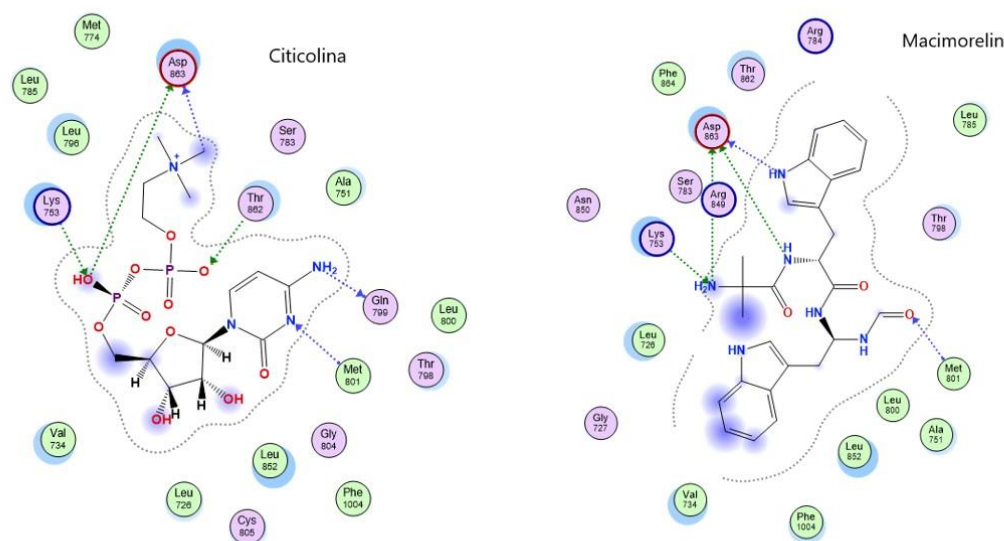


Figura 8.45 Interacciones *Citicolina* y *Macimorelin*, obtenidas mediante farmacóforo. Líneas azules son enlaces de hidrógeno con el esqueleto del aminoácido, las líneas verdes punteadas enlaces de hidrógeno con el grupo R y las líneas verdes no punteadas, interacciones areno-H.

Utilizando *Triangle Matcher* *Citicolina* tiene una disposición espacial similar a la obtenida mediante farmacóforo, aunque sin conservar la interacción con el residuo de Lys753. En la figura 8.46 se pueden ver las interacciones de ambos ligandos y en la 8.47 una comparación entre ambas poses obtenidas para la *Citicolina*.

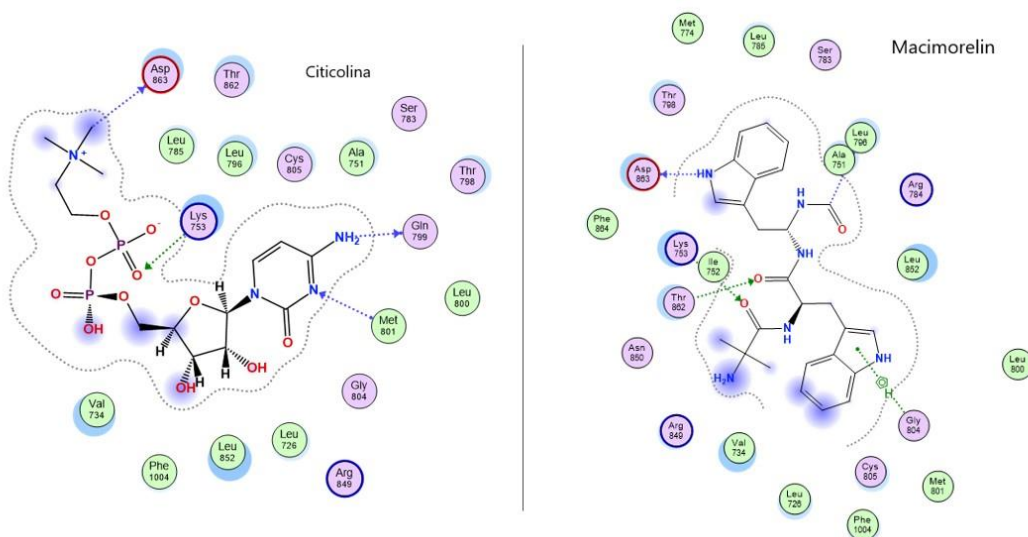


Figura 8.46 Interacciones *Citicolina* y *Macimorelin*, obtenidas mediante *Triangle Matcher*. Líneas azules son enlaces de hidrógeno con el esqueleto del aminoácido, las líneas verdes punteadas enlaces de hidrógeno con el grupo R y las líneas verdes no punteadas, interacciones areno-H.

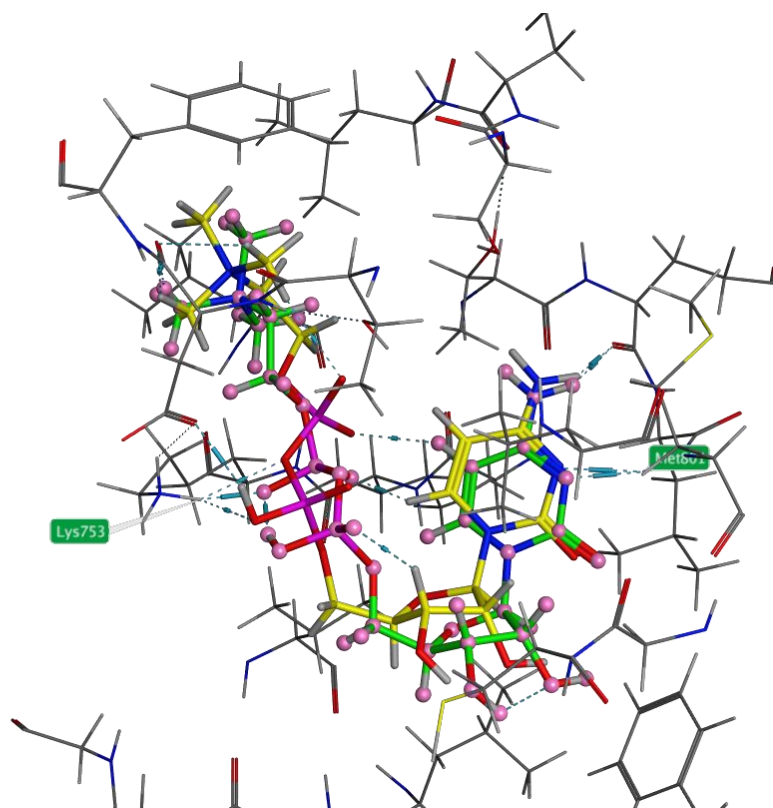


Figura 8.47 *Citicolina* farmacóforo (amarillo) vs *Citicolina Triangle Matcher* (verde)

En vista de los resultados vistos, *Citicolina* podría ser un posible inhibidor debido a las disposiciones espaciales tan parecidas que se obtienen usando los dos métodos, interacciona con dos de los aminoácidos esenciales mediante enlaces de hidrógeno y tiene buena afinidad por el centro activo.

Macimorelin podría ser también un potencial inhibidor, ya que cumple con todo lo que se ha dicho de *Citicolina*, aunque tenga una disposición espacial diferente en cada método.

A continuación, se evaluarán *Piperaquina* y *Biotina*. Con farmacóforo ambos ligandos presentan una disposición espacial similar e interaccionan de la misma forma con los residuos de Met₈₀₁ y Lys₇₅₃, debido al cierto parecido estructural de ambas moléculas. Las interacciones se pueden ver en la figura **8.48** y la comparación de las disposiciones espaciales en la figura **8.49**.

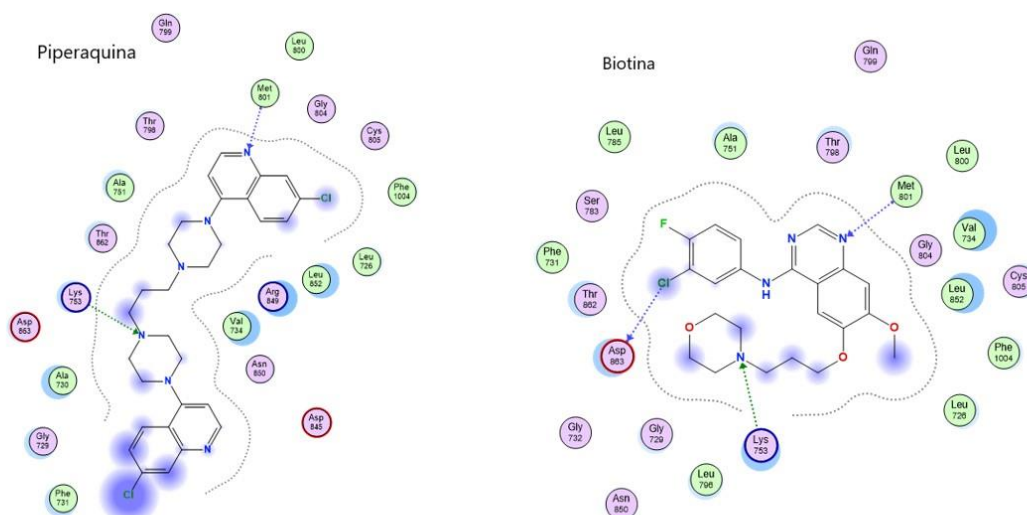


Figura 8.48 Interacciones *Piperaquina* y *Biotina*, obtenidas mediante farmacóforo. Líneas azules son enlaces de hidrógeno con el esqueleto del aminoácido, las líneas verdes punteadas enlaces de hidrógeno con el grupo R y las líneas verdes no punteadas, interacciones areno-H.

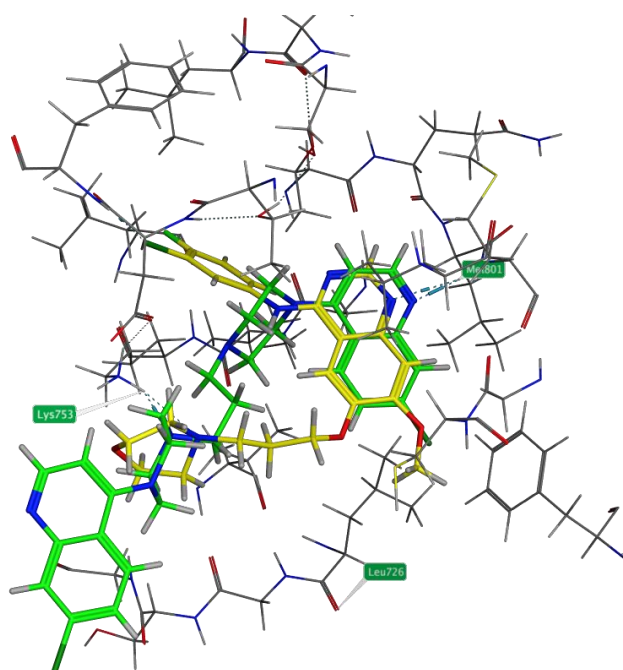


Figura 8.49 *Piperaquina* vs *Biotina*. Obtenido mediante farmacóforo.

Utilizando *Triangle Matcher* se consiguen interacciones y disposiciones espaciales completamente diferentes a las obtenidas mediante farmacóforo, tal y como se ve en las figuras **8.50** y **8.51**.

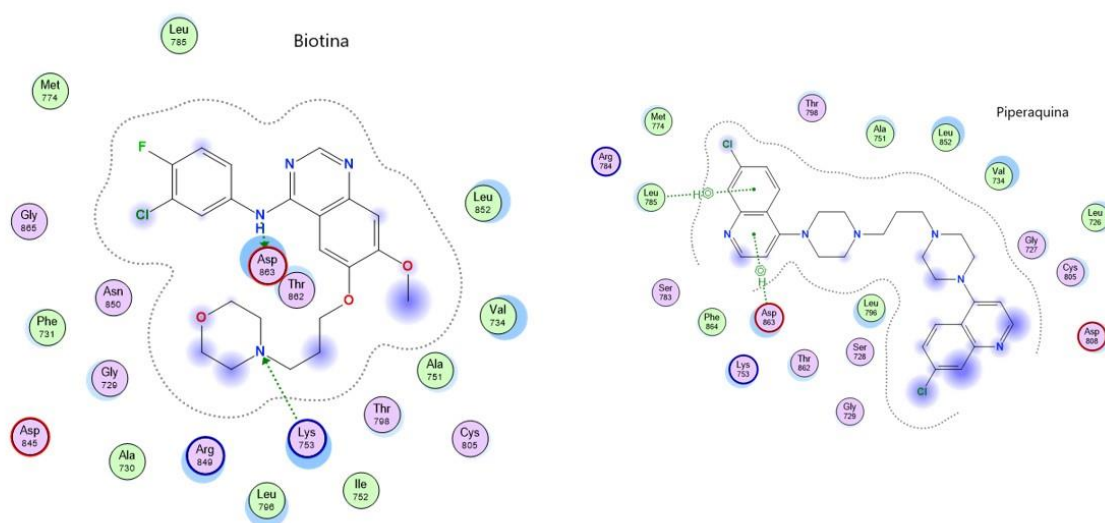


Figura 8.50 Interacciones *Piperaquina* y *Biotina*, obtenidas mediante *Triangle Matcher*. Líneas azules son enlaces de hidrógeno con el esqueleto del aminoácido, las líneas verdes punteadas enlaces de hidrógeno con el grupo R y las líneas verdes no punteadas, interacciones areno-H.

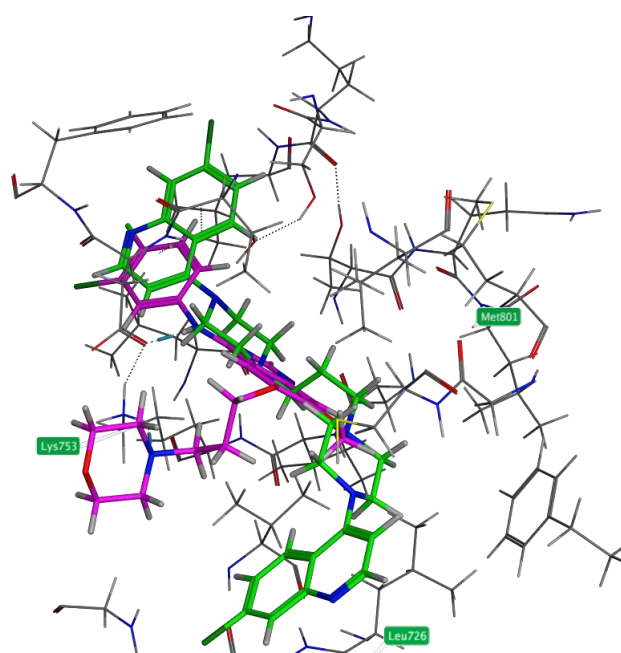


Figura 8.51 *Piperaquina* vs *Biotina*. Obtenido mediante *triangle Matcher*.

Es muy probable que las poses que se vayan a dar sean las obtenidas mediante farmacóforo, ya que las afinidades que presentan los ligandos en ambos métodos son muy parecidas, e incluso mayor para el caso de *Biotina*.

En base de las interacciones y afinidades, estos dos ligandos podrían ser potenciales inhibidores.

Para terminar el grupo II, se evaluarán los tres últimos ligandos del grupo, *Bonsentan*, *Valaciclovir* y *Erlotinib*.

Haciendo uso de farmacóforo todos interaccionan con, al menos, un aminoácido esencial del centro activo mediante enlace de hidrógeno, tal y como se puede ver en las figuras 8.52 y 8.53.

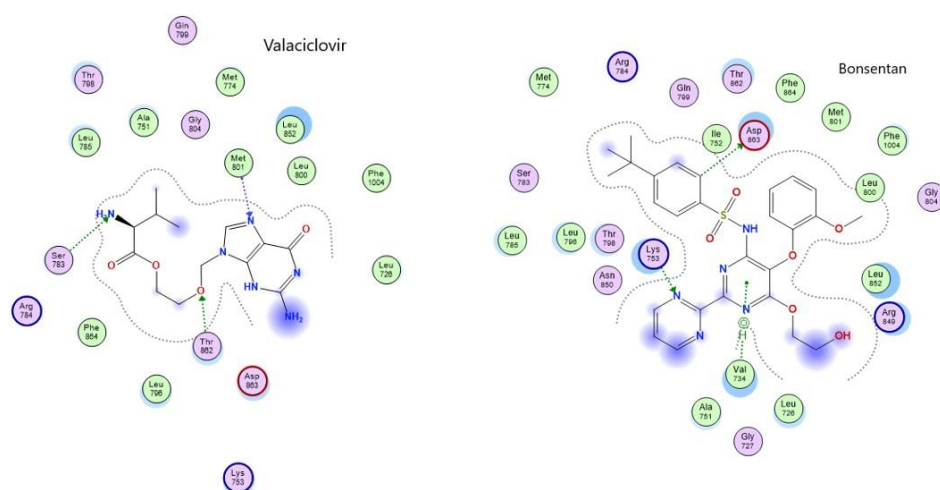


Figura 8.52 Interacciones *Valaciclovir* y *Bonsentan*, obtenidas mediante farmacóforo. Líneas azules son enlaces de hidrógeno con el esqueleto del aminoácido, las líneas verdes punteadas enlaces de hidrógeno con el grupo R y las líneas verdes no punteadas, interacciones areno-H.

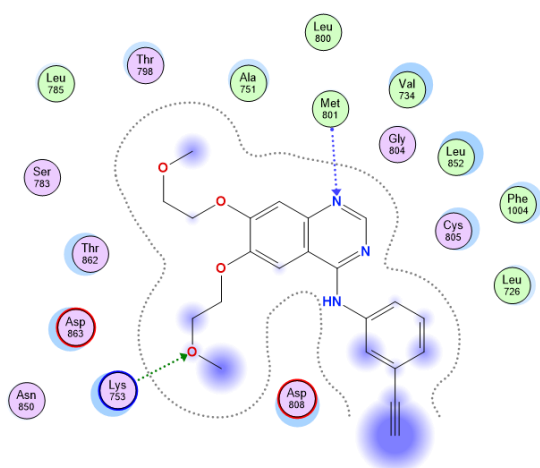


Figura 8.53 Interacciones de *Erlotinib*, obtenidas mediante farmacóforo. Líneas azules son enlaces de hidrógeno con el esqueleto del aminoácido, las líneas verdes punteadas enlaces de hidrógeno con el grupo R y las líneas verdes no punteadas, interacciones areno-H.

Con *Triangle Matcher*, siguen manteniendo las interacciones con los aminoácidos esenciales, aunque con una disposición espacial diferente, como se muestra en las figuras 8.54 y 8.55.

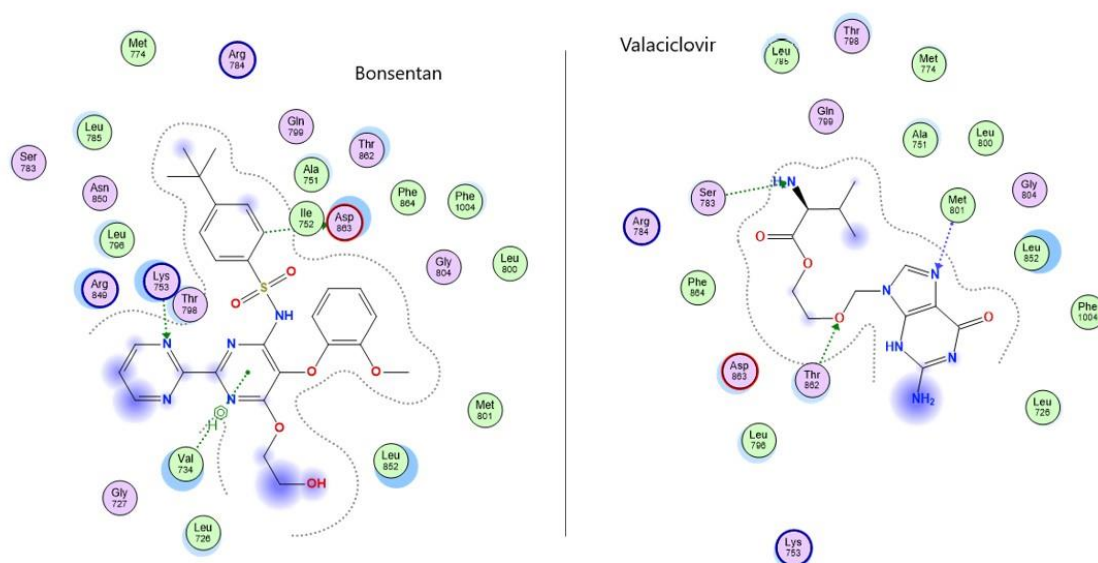


Figura 8.54 Interacciones *Valaciclovir* y *Bonsentan*, obtenidas mediante *Triangle Matcher*. Líneas azules son enlaces de hidrógeno con el esqueleto del aminoácido, las líneas verdes punteadas enlaces de hidrógeno con el grupo R y las líneas verdes no punteadas, interacciones areno-H.

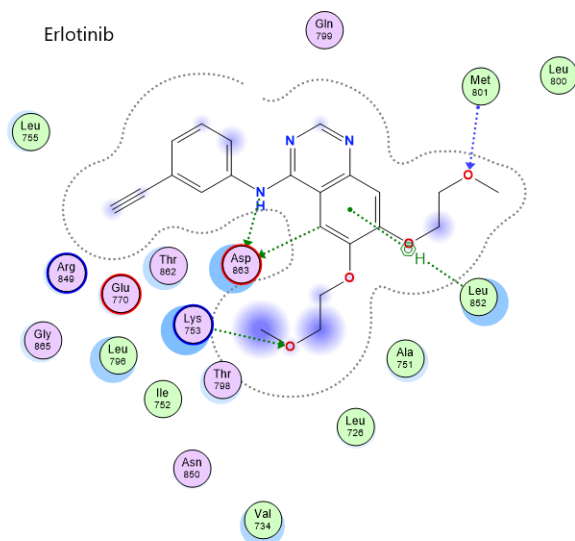


Figura 8.55 Interacciones de *Erlotinib*, obtenidas mediante farmacóforo. Líneas azules son enlaces de hidrógeno con el esqueleto del aminoácido, las líneas verdes punteadas enlaces de hidrógeno con el grupo R y las líneas verdes no punteadas, interacciones areno-H.

Los tres ligandos mostrados podrían ser potenciales inhibidores por tener buena afinidad por el centro activo e interactuar con los aminoácidos esenciales. Aunque, el que lo hace de manera similar al ligando de referencia es *Valaciclovir*.

A continuación, se mostrarán las energías de interacción con los aminoácidos esenciales de cada ligando de este grupo en las tablas **8.3** y **8.4**.

Tabla 8.3 Energías de interacción dadas con farmacóforo.

Ligando	Met ₈₀₁ dador (Kcal/mol)	Met ₈₀₁ aceptor (Kcal/mol)	Lys ₇₅₃ (Kcal/mol)	Leu ₇₂₆ (Kcal/mol)	S(Kcal/mol)
Ecorafenib		3.6	-1.5		-8.47
Benfotiamina		-2.4	-9.3		-8.88
Momelotinib		-1.7			-7.61
Infigratinib		-2.8			-9.54
Citicolina		-4.4	-1.8		-9.22
Macimorelin		-4.4	-6.1		-9.20
Piperaquina		-5.0	-9.0		-8.95
Biotina		-2.9	-4.6		-8.72
Bonsentan		-2.8	-9.2		-8.47
Valaciclovir		-4.8	-6.4		-7.16
Erlotinib		-1.7	-8.1		-7.99

Tabla 8.4 Energías de interacción dadas con *Triangle Matcher*.

Ligando	Met ₈₀₁ dador (Kcal/mol)	Met ₈₀₁ aceptor (Kcal/mol)	Lys ₇₅₃ (Kcal/mol)	Leu ₇₂₆ (Kcal/mol)	S(Kcal/mol)
Ecorafenib			-11.1		-9.76
Benfotiamina		-3.6	-1.9		-10.70
Momelotinib			-5.9		-8.39
Infigratinib			-0.5		-10.26
Citicolina		-4.1	-14.0		-8.81

Macimorelin		-8.4	-9.76
Piperaquina			-9.10
Biotina	-10.6		-8.32
Bonsentan		-6.7	-9.74
Valaciclovir	-4.4		-8.11
Erlotinib	-2.6	-7.8	-8.89

En vista de los resultados obtenidos para este grupo, se puede decir que todos los ligandos podrían ser potenciales inhibidores del HER2. Aunque, de la piperaquina no se puede decir con mucha seguridad debido a las diferencias de los resultados obtenidos usando ambos métodos.

En definitiva, el objetivo principal de obtener potenciales inhibidores del dominio de la quinasa del HER2 se ha conseguido parcialmente para el grupo I y, completamente para el grupo II.

9. CONCLUSIONES.

En este estudio se ha evaluado, mediante simulación computacional, la posibilidad de reposicionar una serie de fármacos aprobados por la FDA. Este estudio se ha llevado a cabo usando MOE.2022 y se han llegado a las siguientes conclusiones.

- El tamaño de las moléculas influye en el parámetro S, siendo las moléculas más grandes las que han conseguido mayor afinidad por el sitio activo.
- Todos los ligandos seleccionados menos *Thonzylamine*, podrían intentar reposicionarse como fármacos contra el cáncer de mama HER2 positivo. Algunos con mayor probabilidad que otros.
- Usando farmacóforo se pueden obtener resultados más reproducibles que con *Triangle Matcher*, debido a la aleatoriedad de este último método.
- Si se desean obtener interacciones similares a las del ligando de referencia es necesario que la molécula tenga un núcleo de pirimidina, quinolina o purina para que interaccione con el ligando de Met₈₀₁.

10. BIBLIOGRAFÍA.

Airley, R. (2009). *Cancer Chemotherapy: Basic Science to the Clinic* (1.^a ed.). John Wiley & Sons, Incorporated. <https://ebookcentral--proquest--com.ujaen.debiblio.com/lib/ujaen/detail.action?pq-origsite=primo&docID=427919>

Álvarez, R., Cortes, J., Falzon, M., Gandy, M., Gianni, L., Harbeck, N., & Martine, P. (2013). *Handbook of HER2-Targeted Agents in Breast Cancer* (1^o). Springer Healthcare Limited

Arora, S., & Kumar, R. (2023). Chapter 8—FDA approved six-membered ring fused pyrimidine-based derivatives. En R. Kumar & R. Vardanyan (Eds.), *Fused Pyrimidine-Based Drug Discovery* (pp. 221-248). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-18616-5.00011-9>

Avendaño, M. del C., & Menéndez, J. C. (2008). *Medicinal Chemistry of Anticancer Drugs* (1.^a ed.). Amsterdam: Elsevier.

Collins, D., Conlon, N., Kannan, S., Verma, C., Eli, L., Lalani, A., & Crown, J. (2019). Preclinical Characteristics of the Irreversible Pan-HER Kinase Inhibitor Neratinib Compared with Lapatinib: Implications for the Treatment of HER2-Positive and HER2-Mutated Breast Cancer. *Cancers*, 11, 737. <https://doi.org/10.3390/cancers11060737>

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*. 21(1). Revista Médica de Risaralda, 21(5), 31-37.

Hayes, D. (2019). *HER2 and Breast Cancer—A Phenomenal Success Story*. New England Journal of Medicine, 381(13), 1284-1286. <https://doi.org/10.1056/NEJMcibr1909386>

Fouad, Y. A., & Aanei, C. (2017). Revisiting the hallmarks of cancer. *American Journal of Cancer Research*, 7(5), 1016-1036.

Kulkarni, V. S., Alagarsamy, V., Solomon, V. R., Jose, P. A., & Murugesan, S. (2023). Drug Repurposing: An Effective Tool in Modern Drug Discovery. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 49(2), 157-166. <https://doi.org/10.1134/S1068162023020139>

Ralhan, R., & Kaur, J. (2007). Alkylating agents and cancer therapy. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 17(9), 1061–1075. <https://doi.org/10.1517/13543776.17.9.1061>

Rengifo, G. F. G., Castañeda, C. G., Guerinoni, D. E., & Tubeh, R. (2007). *Sobre expresión de genes de las enzimas de la vía glicolítica en células cancerígenas*. *Acta Médica Peruana*, 23(5), 187-197.

Sarmiento, M. M. J., Alonso, M. del C. F., & Campillo, N. E. (2021). *Nuevos usos para viejos medicamentos*. Los Libros De La Catarata.

Son, S., Elkamhawy, A., Gul, A. R., Al-Karmalawy, A. A., Alnajjar, R., Abdeen, A., Ibrahim, S. F., Alshammari, S. O., Alshammari, Q. A., Choi, W. J., Park, T. J., & Lee, K. (2023). Development of new TAK-285 derivatives as potent EGFR/HER2 inhibitors possessing antiproliferative effects against 22RV1 and PC3 prostate carcinoma cell lines. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 38(1), 2202358. <https://doi.org/10.1080/14756366.2023.2202358>

Wang, M., & Chang, A. Y.-C. (2018). Molecular mechanism of action and potential biomarkers of growth inhibition of synergistic combination of afatinib and dasatinib against gefitinib-resistant non-small cell lung cancer cells. *Oncotarget*, 9(23), 16533-16546. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.24814>