BENÉMERITA UNIVERSIDAD AUTONÓMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

LICENCIATURA EN QUÍMICO FARMACOBIÓLOGO

“EVALUACIÓN BIOINFORMÁTICA DE METILFENILHIDRAZONAS CRISTALINAS Y SU POTENCIAL ACTIVIDAD FARMACOLÓGICA CONTRA CÁNCER DE TIPO HORMONA-DEPENDIENTE”

TESIS PRESENTADA QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO FARMACOBIÓLOGO

PRESENTA

MARIAM HERNÁNDEZ AGUILANDO

DIRECTOR EXTERNO DE TESIS

DR. ÁNGEL GABRIEL MENDOZA MARTÍNEZ

ASESOR EXTERNO DE TESIS

DR. ALAN CARRASCO CARBALLO

DIRECTOR INTERNO DE TESIS

M.C. MARIA GUADALUPE SILVIA HERNÁNDEZ TELLEZ

ABRIL 2024

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Difracción de Rayos X edificio IC10, perteneciente al Centro de Química del Instituto de Ciencias de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla bajo la dirección del Dr. Ángel Gabriel Mendoza Martínez.

Agradecimientos

Al Laboratorio de Elucidación y Síntesis en Química Orgánica en la división de Bioinformática con el Software Schrödinger licenciado bajo el Proyecto Pronaces 317580.

A la Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado por la Licencia CSD-Enterprise 2023-2024.

Al Laboratorio Nacional de Supercómputo del Sureste de México (LNS), perteneciente al padrón de laboratorios nacionales CONACYT, por los recursos computacionales, el apoyo y la asistencia técnica brindados, a través del proyecto No. 202201043C.

Dedicatoria

A Dios, por permitirme llegar a este punto de vida, por brindarme esa sabiduría que necesité a lo largo de la carrera profesional, por todas las bendiciones y obstáculos que ha puesto en mi camino, que me ayudaron a crecer personal y profesionalmente, así como guiarme en el proceso.

A mis padres, por regalarme su esfuerzo y sacrificio; por enseñarme a ser independiente, para tomar mis propias decisiones, respetarlas y brindarme su apoyo incondicional; por escucharme y entenderme y darme las palabras correctas en el momento correcto; por mostrarme que con disciplina, constancia, perseverancia, humildad y valentía puedo lograr lo que sea.

A mi hermana Violeta y a su pequeña familia, por abrirme las puertas de su casa y brindarme ese hogar que no tuvo ella, cuando le toco salir a cumplir sus propios sueños. A mi sobrina Zoe Marié, por iluminarme cada uno de mis días. A mi hermano Mario Alberto, por ser mi ejemplo de resiliencia y fortaleza, enseñarme a no darme por vencida nunca. A mi roomie, mi prima, mi hermana Tania, por la experiencia de vivir juntas y acompañarnos en el proceso.

A mis abuelas Irma y Reyna, por tenerme presente siempre en sus oraciones, que sin duda han sido parte de mi bienestar al estar lejos de casa. A mi abuelo Everardo (†) que tras su partida se llevó un pedacito de mí, pero que a su vez me impulso a seguir adelante y disfrutar cada segundo de la vida como él lo hacía con su carisma y buen humor.

A la maestra Teresa por creer en mí y mis capacidades, por guiarme y aconsejarme en decisiones que he tomado para darle rumbo a mi carrera. Y por inspirarme a superarme cada día más.

Al Dr. Ángel por confiar en mí, por instruirme y brindarme las herramientas necesarias para poder llevar a cabo este trabajo, por motivarme a lo largo del trayecto, para lograr los objetivos en conjunto.

A mis mejores amigas Samantha y Nataly, por escucharme y entenderme en mis peores momentos y ayudarme a creer en mí. Y a mis amigos, por enseñarme el verdadero significado de compañerismo y compartir esta travesía juntos.

A todos los mencionados anteriormente, por su apoyo moral, por darme ánimos, brindarme esas las palabras de aliento y recordarme siempre de lo que soy capaz justo en los momentos que más lo necesitaba.

Y por último le dedico este logro a la niña que soñaba con ser una profesionista, a la adolescente que no se rindió cuando se les cerraron las puertas, a Mariam por superar estos 5 años de carrera, que no se rindió cuando sentía que no podía, que tuvo que dejar su hogar y su familia por un sueño para entregarse en cuerpo y alma para cumplirlo.

Resumen

En la presente investigación se utilizaron herramientas bioinformáticas para analizar el potencial biológico de las moléculas derivadas de la metilfenilhidrazona frente a biomoléculas con actividad biológica. Estos estudios se realizaron por medio de plataformas como SwissTargetPrediction, UniProt, Proteína Data Bank, de modo que, se determinaron las dianas terapéuticas. Los resultados obtenidos muestran que, la enzima **11-β-hidroxiesteroide deshidrogenasa 1** presentó una interacción del 43% con los derivados, de modo que, su posible inhibición puede presentar un objetivo potencial para el tratamiento de la obesidad, elementos del síndrome metabólico y podría estar asociada con cáncer de tipo hormona-dependiente. Por otra parte, la enzima **Citocromo P450 19A1** presentó una interacción del 32% y está se encuentra involucrada en la biosíntesis de andrógenos, los cuales participan en el desarrollo sexual tanto masculino como femenino, por lo que también está asociado a la progresión del cáncer dependiente de hormonas. Los resultados dieron paso a estudios de docking molecular para predecir el tipo de interacción específica para cada una de las biomoléculas seleccionadas.

Índice

I. Introducción 11

II. Antecedentes 14

2.1 Cáncer 14

2.2 Cáncer hormona dependiente 14

2.2.1 Hormonas esteroidales 15

2.2.2 Cáncer de mama 16

2.2.3 Cáncer de próstata 18

2.3 Glucocorticoides 20

2.3.1 Receptores de glucocorticoides 23

2.3.2 Glucocorticoides y cáncer 23

2.3.3 11 β hidroxiesteroide deshidrogenasa 1 (11β HSD1) 24

2.3.4 Inhibidores de la 11β HSDS1 25

2.4 Estrógenos 26

2.4.1 Receptores de estrógenos 28

2.4.2 Estrógenos, andrógenos y cáncer 29

2.4.3 Aromatasa 30

2.4.4 Inhibidores de la aromatasa 31

2.5 Condensación con hidracinas 33

2.5.1 Cetonas y aldehídos 33

2.5.2 Hidrazonas 34

2.6 Actividad farmacológica 35

2.6.1 Anticancerígena 35

2.7 Diseño de fármacos asistido por computadora 36

2.7.1 Diseño de fármacos basado en la estructura 37

2.7.2 Diseño de fármacos basado en el ligando 38

2.7.3 Cribado virtual 38

2.7.4 Acoplamiento molecular 39

2.7.5 Funciones de puntuación 41

2.7.6 Quimioinformatica y bases de datos 41

2.7.7 Base de datos cristalográfica de Cambridge 42

2.7.8 SwissTargetPrediction 43

2.7.9 UniProt 44

2.7.10 Protein DataBank 44

III. PLANTEAMIENTO 46

IV. JUSTIFICACIÓN 48

V. HIPÓTESIS 49

VI. OBJETIVOS 50

6.1 Objetivo General 50

6.2 Objetivos Particulares 50

VII. METODOLOGÍA 50

7.1 Selección y preparación de metilfenilhidrazonas 51

7.2 Selección de las dianas biológicas 52

7.3 Selección de los inhibidores de referencia 52

7.4 Preparación de ligandos. 53

7.5 Preparación de inhibidores de referencia 53

7.6 Acoplamiento Molecular 54

VIII. RESULTADOS 55

8.1 Diagrama de frecuencia 55

8.2 Análisis energético 57

8.3 11βDSHS1 vs CYP19A1 66

8.4 Análisis espacial del sitio de unión 68

8.5 Análisis de interacción de los ligandos. 73

IX. DISCUSIÓN 83

X. CONCLUSIÓN 87

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 89

ANEXOS 105

ABREVIATURAS	
11βHSDS1	11-beta-hidroxiesteroide-deshidrogenasa 1
CYP19A1	Citocromo P450 19A1
ER	Receptor de estrógenos
PSA	Prueba de Antígeno Prostático Específico
HER2	Receptor del factor de crecimiento epidérmico humano de tipo 2
GR	Glucocorticoides
GRE	Elementos de respuesta a los glucocorticoides
CRH	Hormona liberadora de corticotropina
ACTH	Corticotropina
CBG	Globulina transportadora de corticoesteroides
SDR	Cadena corta de las deshidrogenasas/reductasas
NAD	Nicotinamida adenina dinucleótido
NADP/NADPH	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
GnRH	Hormona liberadora de gonadotropina
LH	Hormona luteinizante
FSH	Hormona foliculoestimulante
DHT	Dihidrotestosterona
HPB	Hiperplasia prostatita benigna
RMN	Resonancia magnética nuclear
CSD	Base de datos estructural de Cambridge
PDB	Banco de datos de proteínas
FDA	Administración de Alimentos y Medicamentos
SBDD	Diseño de fármacos basados en estructuras
DIFAC	Diseño de fármacos asistido por computadora
CCDC	Base cristalográfica de Cambridge
ASP	Ácido aspártico
GLU	Ácido glutámico
ARG	Arginina
LYS	Lisina
HIS	Histidina
SER	Serina
THR	Treonina
TYR	Tirosina
CYS	Cisteína
ILE	Isoleucina
LEU	Leucina
ALA	Alanina
VAL	Valina
GLY	Glicina
MET	Metionina
PRO	Prolina
PHE	Fenilalanina
HEM	Grupo hemo

I. Introducción

Los compuestos Metilfenilhidrazona, pertenecen a la familia de las hidrazonas, es un derivado que complementa al grupo azometina de la hidracina (-NH-N=CH-) con la adición de un grupo metil, un grupo fenilo y un sustituyente. El grupo azometina es atractivo, debido al grupo carbonilo que lo compone, de modo que, es responsable de la versatilidad que tienen en aplicaciones farmacéuticas, por lo que posicionan a las hidrazonas y derivados sustituidos en el ojo, para potenciales fármacos (1). Algunos ejemplos que existen comercialmente de fármacos de la familia de hidrazonas es la Nitrofurazona (2) es un antibiótico de amplio espectro, indicado para tratar infecciones en la piel provocadas por bacterias, sin embargo su comercialización solo aplica para medicamentos tópicos; Furazolidona (3) antibiótico su uso es contra *Helicobacter pylori* en algunos países, ya que la FDA descontinuo el fármaco en 1985: Nitrofurantoína, (4) antibiótico indicado para el tratamiento de profilaxis contra a infecciones agudas o recurrentes en vías urinarias.

La búsqueda y diseño de fármacos, que en el método tradicional incluye años de investigación, con una inversión de millones de dólares, actualmente ha sido sustituido por el diseño de fármacos asistido por computadora. Este diseño es multidisciplinario y sobre todo que el desarrollo de los programas computacionales que se utilizan son de fácil acceso y uso, esto no quiere decir que el método sea automatizado, sino que el empleo de equipos de cómputo y bases de datos ahorra mucho tiempo en el proceso de investigación, por consecuente ahorra dinero, debido a que el desarrollo del método permite la identificación de los compuestos, a través de bases de datos conocer su

actividad biológica, además de que se puede seleccionar a los candidatos logrando que la parte experimental sea específica (5).

El diseño de fármacos asistido por computadora utiliza diferentes modelos computacionales, como el cribado virtual, quimioinformatica, acoplamiento molecular, etc. Este último es el que se ha utilizado para la presente investigación debido al objetivo particular se tiene y por las componentes del estudio, permite buscar la conformación y posición optima del ligando dentro de una diana molecular (6).

La selección de un blanco molecular depende de un análisis previo, donde primero, se buscan moléculas reportadas en la base Cristalográfica de Cambridge, derivadas de la metilfenilhidrazona que de acuerdo a criterios que se establezcan para el análisis, se realiza una selección y se continúa su estudio, empleando programas y/o bases de datos, por ejemplo, SwissTargetPrediction que permite realizar al usuario un cribado en bibliotecas químicas, por medio del cálculo de similitud entre los compuestos del usuario y la colección de activos conocidos de la plataforma con el fin de conocer, comprender, predecir la actividad biológica de las dianas (7).

En diversos estudios se ha señalado que las enzimas 11β-HSDS1 perteneciente a los glucocorticoides y CYP19A1 a la aromatasa, se encuentran relacionadas con el desarrollo de cáncer, específicamente del tipo hormona dependiente, dado que estas regulan la producción de hormonas esteroidales (8,9). El cáncer de mama depende de dos hormonas importantes de estrógeno o progesterona, la inhibición de la aromatasa es un enfoque que se le ha dado a la investigación contra el cáncer, privando de estrógenos a las células tumorales, disminuyendo la proliferación celular (9). La aromatasa es una enzima importante para la conversión del anillo enona de precursores andrógenos, como la

testosterona a fenol para la producción de estrógeno. Los inhibidores participan para bloquear la producción de estrógeno o bloquear la acción del estrógeno en receptores (10). Por lo que, el cáncer de mama necesita de estrógenos para su desarrollo, entonces los inhibidores de la aromatasa son necesarios para el tratamiento de cáncer de mama sobre todo en mujeres posmenopáusicas (11).

Los andrógenos también se manifiestan en el cáncer de próstata, por lo que el receptor de andrógenos es importante para su progresión y tratamiento. Los niveles de andrógenos en el desarrollo del cáncer se encuentran afectados por las actividades de las enzimas convertidoras de esteroides, es por ello por lo que la terapia para esta afección tiene como objetivo el reducir estos niveles. Sin embargo, se ha creado resistencia a los andrógenos, debido a la sobreexpresión del receptor de glucocorticoides, a la resistencia creada por el sistema inmunológico y la diferenciación neuroendocrina (12).

Hoy en día los fármacos utilizados para el tratamiento, como Tamoxifeno, Exemestano, Letrozol, Anastrazol, (13) contra el cáncer, presentan efectos secundarios como, toxicidad, osteoporosis, enfermedades cardiovasculares, entre otros, es por ello que se necesitan nuevos fármacos que contribuyan a la terapia contra el cáncer. En este proyecto, se pretende contribuir con la búsqueda de potenciales fármacos, es por ello que los derivados de la metilfenilhidrazona fueron los sometidos a análisis, pues diversos estudios han revelado que poseen actividad farmacológica de tipo antibacteriana, antifúngica, antiinflamatoria, anticonvulsiva, antiviral, anticancerígena, entre otras (1).

II. Antecedentes

2.1 Cáncer

El cáncer es la proliferación de células anormales, debido a su poca o nula respuesta a las señales de paro de crecimiento o inducción de apoptosis, ocasionando principalmente un desequilibrio de nutrientes y en la excreción de desechos metabólicos. La multiplicación sin control de las células, provocan la transformación del tejido sano a tumores, que pueden invadir diferentes partes del cuerpo o extenderse a otros órganos, proceso que se conoce como "metástasis". De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, registró casi 10 millones de defunciones en 2020, por afectaciones del cáncer, siendo está enfermedad la principal causa de muerte a nivel mundial (14). En México, en 2021 el INEGI reportó una mortalidad de más 1 millón de personas (15).

Las neoplasias o llamadas comúnmente como "tumores" pueden ser de tipo benignos o malignos, dependerá del comportamiento clínico. Los tumores benignos son aquellos que pierden la regulación normal de crecimiento, pero se encuentran rodeados de una cápsula y no invaden a otros tejidos ni producen metástasis. En caso contrario, cuando se habla de cáncer, generalmente se refiere a tumores malignos, los cuales, si tienen la capacidad de invadir tejidos y órganos circundantes y provocar metástasis (16).

2.2 Cáncer hormona dependiente

Los tumores que se desarrollan en tejidos linfoide, útero, próstata, ovario, glándulas suprarrenales y glándulas mamarias, son estimulados o inhibidos por hormonas, por lo que la regulación del equilibrio hormonal es benéfica para la terapia sistémica de estos cánceres (16). Algún ejemplo, es el uso de estrógenos para suprimir la producción de testosterona en el cáncer

de próstata o bien, la prescripción de glucocorticoides en tratamientos para leucemias agudas, linfomas, mielomas u otros desórdenes mieloproliferantes.

2.2.1 Hormonas esteroidales

Los sistemas de tipo nervioso, endocrino e inmunológico tienen una comunicación estrecha entre sí, con el fin de garantizar principalmente el funcionamiento óptimo del sistema inmunológico. Hay dos ejes neuroendocrinos que impulsan la producción de hormonas esteroidales: hormonas suprarrenales y sexuales, que se conoce que tienen efectos fuertes sobre respuestas inmunes. Las hormonas esteroidales se derivan del colesterol y se sintetizan en las mitocondrias y retículo endoplásmico rugoso por medio de enzimas específicas encargadas de la conversión del colesterol en el esteroide requerido y su expresión dependerá de las hormonas estimulantes de la secreción de los esteroides (17). Se clasifican en hormonas sexuales (estrógenos, andrógenos, progestágenos) que llevan a cabo sus síntesis en las gónadas y en la glándula suprarrenal (glucocorticoides y mineralocorticoides) (18). Las hormonas esteroidales (figura 1) son sustancias de tipo lipofílicas que pueden atravesar con facilidad la membrana plasmática de las células, por medio de acciones bioquímicas, promueven la producción de segundos mensajeros, activación de cinasas a través de receptores nucleares (19).

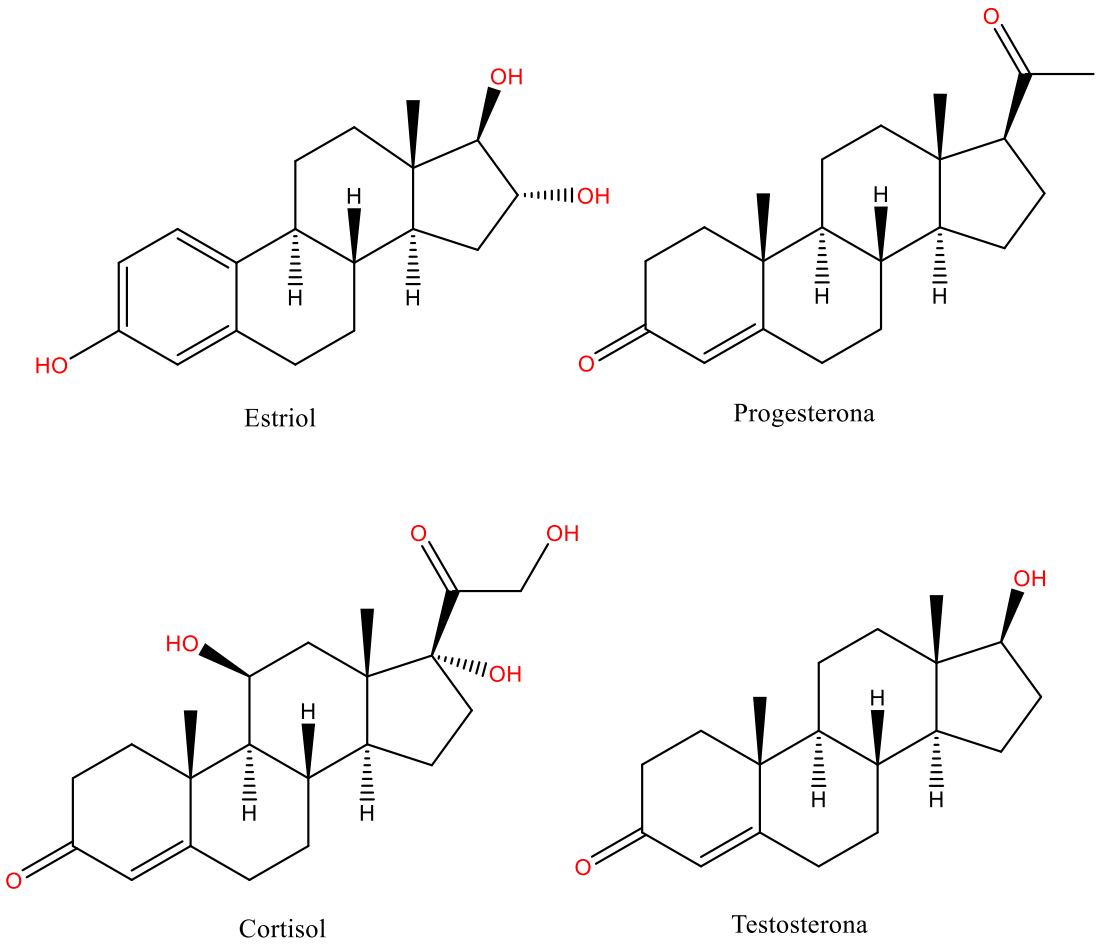


Figura 1. Estructura de las principales hormonas esteroidales; Estriol (Estrógeno), Progesterona (Progestágeno), Cortisol (Glucocorticoides), Testosterona (Andrógenos).

2.2.2 Cáncer de mama

El cáncer de mama es el más común en mujeres en todo el mundo y uno de los mayores en tasa de mortalidad. Esta neoplasia se origina por multifactores, tales como; factores genéticos, factores ambientales y el estilo de vida (20).

El cáncer se desarrolla por una alteración en el genoma, ocasionando una cascada de defectos a nivel molecular, la cual puede desarrollarse en las etapas iniciales, pero al ser diagnosticado las células tumorales presentan diversas alteraciones genéticas. Las alteraciones, generalmente

mutaciones pueden ser heredadas, originando el cáncer hereditario o causadas por diversos iniciadores o promotores dando origen al cáncer esporádico (21). En el caso de los iniciadores, pueden presentarse carcinógenos químicos, radiaciones, daños endógenos y algunos promotores puede ser el estrés, disminución de la inmunidad y hormonas, estás últimas pueden deberse al incremento de la actividad de los receptores de estrógenos y ligandos, estradiol y estrona (22).

El cáncer de mama tiene diferentes sitios de expresión y de cada uno dependerá la valoración y el tratamiento que se aplique. Se incluye la expresión de receptores de estrógenos (ER), al receptor del factor de crecimiento epidérmico humano de tipo 2 (HER2), también pueden presentarse mutaciones en la línea hereditaria o somática (22). Existen diversos genes involucrados en el desarrollo de cáncer de mama, que, al sufrir una variación genética, los factores de riesgo de padecer este tipo de neoplasia aumentan significativamente. (23)

En la base del cáncer se encuentran las alteraciones genéticas, sin embargo, las proteínas cumplen las funciones y al mismo tiempo estás pueden presentar distintas isoformas y modificaciones postraslacionales, lo cual influirá en su función. La función de la proteína cambiará de acuerdo con las proteínas a las que se encuentre asociada y la locación de estas (membrana celular, citoplasma, núcleo) (21).

La mutación que se da en la vía fosfatidilinositol 3 quinasa y la ruta Ras-Raf-MEK-ERK provocan que el mecanismo de apoptosis del sistema inmune pierde su función. Estudios han demostrado que la exposición regular a estrógenos puede provocar estas mutaciones, así mismo la expresión masiva de leptina, la cual se encuentra asociada con la obesidad, en el tejido mamario provoca la proliferación celular, dando como resultado la formación del tumor (24).

2.2.3 Cáncer de próstata

El cáncer de próstata es el segundo tipo más frecuente en los hombres. La incidencia y la muerte por consecuencia de este tipo de cáncer se encuentra relacionado con la edad (25). El *Global Burden of Disease* (GBD) en 2019 estimó que el cáncer de próstata ocupa el 16º puesto de causa de muerte en hombres a nivel mundial. En México ya se cataloga como un problema de salud pública, puesto que en 2019 se clasifico dentro del 4º puesto de muertes en hombres de todas las edades (26). México tiene una tasa de mortalidad de 11.3 por cada 100 mil hombres por cáncer de próstata, representa la primera causa de cáncer y de mortalidad en hombre, esto puede deberse a que los pacientes que han padecido esta neoplasia, se les ha diagnosticado en estadios avanzados de la enfermedad (27, 28). La incidencia es un factor que varía de acuerdo con la edad, se estima que 1 de cada 350 hombres menores de 50 años puede ser diagnosticado con cáncer, está aumenta hasta de 1 por cada 52 hombres entre 50-59 años y hasta un 60% en hombres mayores de 65 años (29).

El cáncer de próstata es una de las neoplasias que se caracterizan por tener una progresión lenta e indolente, con algunos o sin presencia de síntomas, a pesar de los avances tecnológicos, su detección sigue siendo retardada, puesto que se utilizaba la prueba de antígeno prostático especifico (PSA), es una proteína que se expresa en tejido prostático y era efectiva para determinar cáncer en niveles plasmáticos (> 4ng/ml). Sin embargo, ha habido casos de que hombres sin cáncer expresan PSA alto, por lo que la confirmación es a través de biopsia del tejido (29).

Los pacientes que llegan a padecer esta neoplasia, alrededor del 20% reportan antecedentes familiares y su desarrollo se da no solo, por genes compartidos sino también por un patrón de

exposición a carcinógenos ambientales y estilo de vida (30). Muchos de los factores con los que se encuentra asociado el cáncer de próstata, es la dieta, hay evidencia de algunos alimentos pueden poner en riesgo y otros que protegen, por ejemplo, la ingesta de carne, grasa y productos lácteos se encuentran relacionados con un aumento de padecer cáncer de próstata en hombre menores a 60 años, en caso contrario, las verduras crucíferas y tomates, previenen el riesgo de padecer este tipo de cáncer (29).

Las vitaminas y minerales, hay una relación entre la luz solar y la incidencia de cáncer, se sugiere que la deficiencia de vitamina D puede aumentar el riesgo de cáncer de próstata (31). La radiación UV se bloquea en la piel de color oscura, por altos niveles de melanina lo que provoca la inhibición de la conversión en vitamina D3 (29).

La obesidad tambien se encuentra asociado con cáncer de próstata avanzado y agresivo, esto puede deberse a la alteración de los niveles en circulación de hormonas metabólicas y esteroides sexuales, que se sabe que están involucradas en el desarrollo de la próstata y oncogénesis. Además, cuando la obesidad se combina con la inactividad física, se puede desarrollar la resistencia a la insulina, elevando los niveles de está en sangre (32).

Las hormonas sexuales tienen un papel relevante en el desarrollo del cáncer, en el caso de los andrógenos, hay estudios que revelan, que algunos pacientes con cáncer de próstata tienen niveles bajos de testosterona y dihidrotestosterona (DHT), lo que indica que los estrógenos, insulina y vitamina D, se encuentran involucrados en la carcinogénesis de la próstata (29). Los andrógenos participan en el desarrollo, crecimiento y actividades de secreción de la próstata. Se sabe que rutas de señalización y metabolismo son reguladas por andrógenos y algunos genes implicados en estos mecanismos tienen susceptibilidad genética para desarrollar cáncer de próstata (33). Tambien en algunos estudios se ha demostrado que los estrógenos incluyendo la

hormona natural E2, provocan diversas formas de lesiones genéticas, como daño en el ADN, alteraciones cromosómicas, variantes genéticas, que indican que los estrógenos pueden servir como carcinógeno en el desarrollo del cáncer de próstata (34).

2.3 Glucocorticoides

Los glucocorticoides pertenecen a la familia de los corticoesteroides y son fármacos utilizados en el tratamiento de diferentes patologías de la corteza suprarrenal y no endocrinos, esto se debe a que actúan en la mayoría de los órganos y sistemas, son fármacos eficaces, pero presentan abundantes reacciones adversas (19). Las glándulas suprarrenales generalmente secretan dos tipos de hormonas: los corticoesteroides con 21 átomos de carbono y andrógenos con 19. Los corticoesteroides se clasifican en dos clases, la primera se relaciona con el control de agua y metabolitos (mineralocorticoides) su principal hormona es la aldosterona y la segunda, las que se relacionan con el control de metabolismo y de inflamación, de esta última se encargan, los glucocorticoides (GR), los cuales son representados por el cortisol (35).

Los corticoesteroides se sintetizan a partir del colesterol, por medio de la acción de enzimas derivadas del citocromo P-450. La síntesis de los glucocorticoides se da en el eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal, por medio de la glándula suprarrenal que tras su estimulación con la hormona liberadora de corticotropina (CRH), estimula la síntesis de corticotropina (ACTH) en las células corticotropas de la adenohipófisis. La ACTH estimula la producción de cortisol y andrógenos suprarrenales (36).

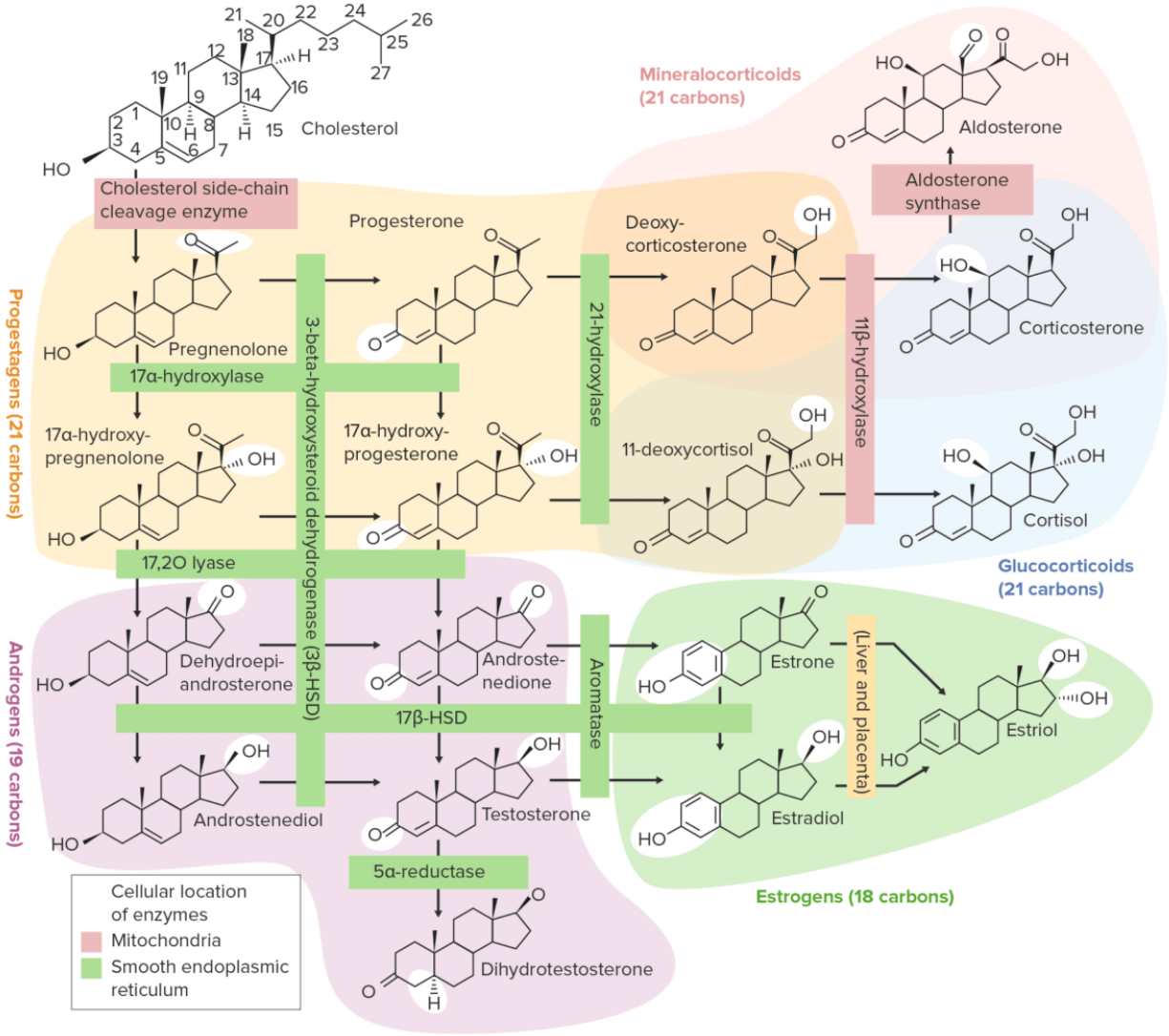


Figura 2. Esquema de las principales vías de biosíntesis de las hormonas esteroidales. Imagen obtenida de: [Internet]. Lecturio. 2022 [citado 15 abril 2024]. Disponible en: https://app.lecturio.com/#/article/2953

Los esteroides suprarrenales interaccionan con receptores intracelulares, tambien llamados receptores nucleares, son factores de transcripción, estos pertenecen a la familia de receptores de las hormonas esteroidales, tiroideas y vitamina D. Por medio de estos receptores, los esteroides modifican la transcripción génica, permitiendo la alteración de la síntesis de proteínas, de tal manera que sus efectos tarden en manifestarse pero que su duración sea larga (19).

El cortisol es abundante en el sistema circulatorio y se une a la globulina transportadora de corticoesteroides (CBG) en mayor al 95% de los casos (35). Se sabe que el cortisol es una hormona, que participa en la regulación de carbohidratos, formación de glucosa y suprime la actividad del sistema inmune. Por lo que la secreción del cortisol no es continua, en las primeras horas del día se encuentra en concentraciones altas y por la noche sus niveles descienden considerablemente.

El cortisol es una hormona importante que afecta muchos factores metabólicos del organismo (8). Uno de los principales es la enzima microsomal 11β-hidroxiesteroide deshidrogenasa (11βHSD), la cual se encuentra presenta en dos isoformas la 11βHSD1 y 11βHSD2, la primera cataliza la conversión de cortisona a cortisol (37).

El estrés de tipo crónico también afecta los niveles de cortisol, por ende, hay un aumento de la actividad 11βHSD1 (38). Altos niveles de cortisol disminuyen la eficacia del sistema inmunológico (39). Durante el desarrollo del cáncer, el sistema inmunológico es el encargado de reconocer cambios patológicos, por lo que su participación es clave en la detención y terapia de la enfermedad. Las células NK (Natural Killer) son las que inhiben la formación y desarrollo de metástasis en los pacientes, tras activar a los receptores NKG2D y DNAM-1 (40). La actividad de la enzima 11βHSD1 se relaciona con los niveles de células NK, por lo tanto, la disminución

de actividad de 11βHSD1 aumenta el número de células NK, proporcionando una respuesta inmune más eficaz.

2.3.1 Receptores de glucocorticoides

Los glucocorticoides como se ha mencionado anteriormente tienen efectos en diversos tejidos, por medio de un tipo único de receptores específicos, los receptores de glucocorticoides (RG). Los RG actúan sobre distintos genes ocasionando cambios, pueden ser de estimulación o inhibición, en la síntesis de proteínas y en la respuesta tisular (19).

En ausencia del esteroide, los RG se encuentran asociados a un complejo proteico conformado por proteínas de choque térmico (HSP90, HSP70 y HSP56) las cuales se encargan de mantener el receptor en una conformación inactiva para que pueda unirse al ADN, teniendo una afinidad por los esteroides. Cuando se da la unión de los receptores a los corticoesteroides provocan una disociación de los receptores del complejo proteico y su translocación del citoplasma hacia el núcleo celular, donde se llevará a cabo la modificación de la expresión génica. Dentro del núcleo, los receptores se unen en forma de homodímeros a la zona del ADN reguladoras o promotoras de los genes, llamado elementos de respuesta a los glucocorticoides (GRE). Entonces cuando hay activación de los receptores GR y se unen a los GRE, se aumenta la expresión de un gen, obteniendo como resultado el aumento de la síntesis de proteínas (19).

2.3.2 Glucocorticoides y cáncer

Desde hace 70 años los glucocorticoides son utilizados para el tratamiento de neoplasias malignas de tipo linfoide, se incluyen en las sesiones de quimioterapia para inducir la apoptosis celular en los cánceres. También se ha introducido su uso en neoplasias no hematológicas, como

monoterapia o combinada con otros fármacos citotóxicos para beneficio de cánceres de mama y próstata, únicamente. Sin embargo, esto no modifica la supervivencia a largo plazo del cáncer de mama (41).

Los glucocorticoides actúan tras unirse a receptores específicos que se translocan hacia el núcleo e inducen un estado de tipo proliferativo y una respuesta apoptótica en células sensibles. Así mismo representan un papel importante en la configuración de respuestas inmunes en el microambiente tumoral.

2.3.3 11 β hidroxiesteroide deshidrogenasa 1 (11βHSD1)

La 11β-hidroxiesteroide deshidrogenasa es una enzima de la familia de cadena corta de las deshidrogenasas/reductasas (SDR) que son dependientes de la nicotinamida adenina dinucleótido (NAD) o nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADP). De esta familia se derivan dos isoformas la 11β-hidroxiesteroide deshidrogenasa de tipo 1 y 11β-hidroxiesteroide deshidrogenasa de tipo 2, la primera se encuentra en el cromosoma 1 y la segunda en el cromosoma 16. La 11βHSD1 es una oxidorreductasa dependiente de NADPH que su principal función es catalizar la conversión de cortisona inactiva a cortisol activo (figura 3), por su parte, la 11βHSDS2 realiza una reacción inversa, es decir, del cortisol inactivo lo transforma a cortisona (42).

Ambas isoformas tienen una secuencia N-terminal, la cual permite el anclaje en la membrana del retículo endoplásmico (RE). En la 11βHSDS1 su sección cataliza se ubica hacia la luz del RE y se encuentra principalmente en hígado, pulmones y tejido adiposo en humanos (37).

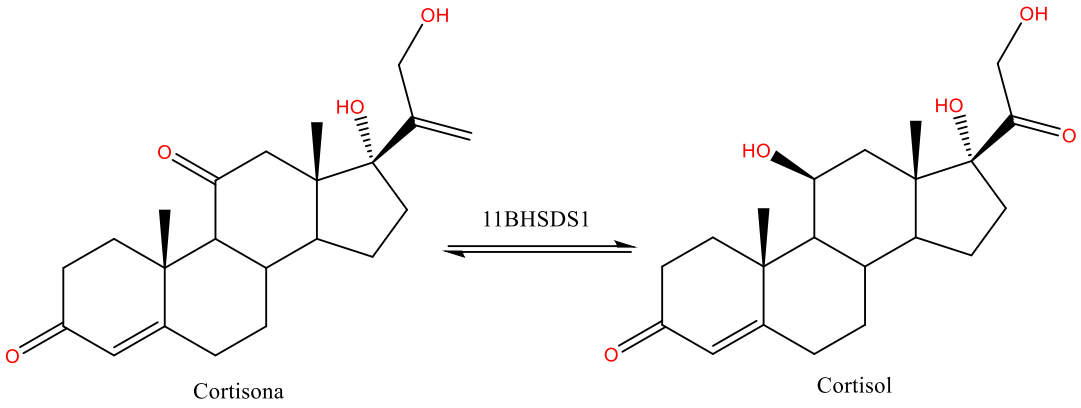


Figura 3. Esquema de síntesis de cortisol.

2.3.4 Inhibidores de la 11β HSDS1

Cuando existe la inhibición de la actividad de la enzima 11β-hidroxiesteroide deshidrogenasa 1, hay una disminución en los niveles de cortisol, disminuye la masa de tejido adiposo, hay resistencia a la insulina, obesidad central y disminución total de colesterol (43).

La Carbenoxolona (figura 4c) es uno de los inhibidores de la 11βHSD1, es un éster hemisuccinato derivado del ácido glicirretínico, de origen natural presente en la raíz de regaliz. Es un potente inhibidor no selectivo de la enzima (8). La Carbenoxolona tiene un uso terapéutico como tratamiento de úlcera péptica y al inhibir la 11βHSD1 provoca aumento en concentraciones plasmáticas de los glucocorticoides, disminuye su aclaramiento y prolonga su tiempo de semivida, potenciando su acción (44).

Dentro de los inhibidores selectivos, se destacan derivados de 2-aminotiazol, por ejemplo; Biovitrum BVT-2733, Biovitrum BVT-14225 (figura 4d) y Biovitrum BVT-3498; en el grupo de los altamente selectivos se encuentran: Amgen 2922 (figura 4a) y AMG-221 (8). Sin embargo, estos inhibidores aún se encuentran en ensayos clínicos, por lo que la búsqueda de nuevos compuestos con actividad terapéutica continúa. Así mismo existe un grupo pequeño de

inhibidores no esteroideos, donde se ubican algunos fungicidas como: itraconazol (figura 4b) y posaconazol (37). De inhibidores esteroideos no se encontraron reportes que evidencien su existencia.

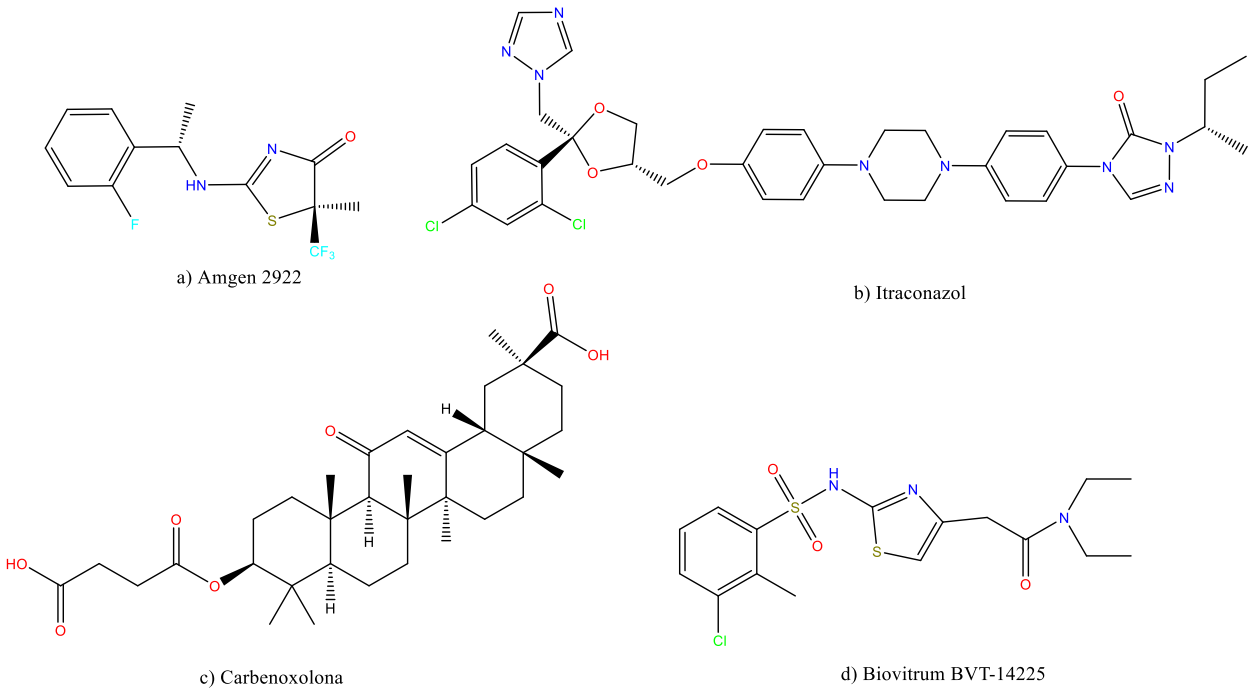
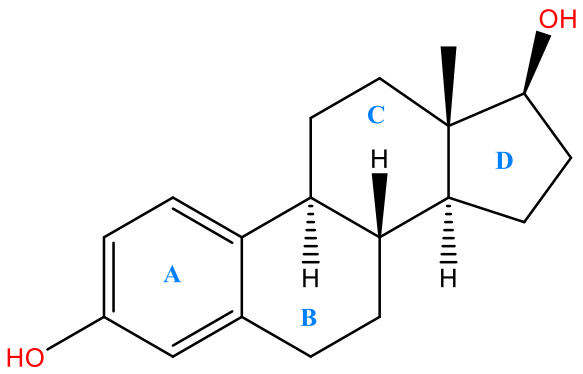


Figura 4. Estructura de algunos inhibidores de la 11β-HSD1

2.4 Estrógenos

Los estrógenos esteroidales se derivan de la androstenediona o la testosterona, por la aromatización del anillo A (figura 5). Esta reacción es catalizada por la aromatasa (CYP19A1), que utiliza andrógenos, NADPH y oxígeno molecular como cosustratos. Estas proteínas se encuentran localizadas en el retículo endoplásmico de las células de granulosa ovárica, células testiculares de Sertoli y de Leydig, en el estroma adiposo, el sincitiotrofoblasto placentario, en los blastocistos, en el hueso, varias regiones cerebrales y mama (35).



Estradiol

Figura 5. Fórmula estructural del estradiol, en azul se indican los anillos.

Los estrógenos pueden producirse en forma local a partir de andrógenos mediante las acciones de la aromatasa o mediante hidrólisis de conjugados de estrógenos. La producción local de estrógenos puede tener una función causal o promotora en el desarrollo de algunas enfermedades, como el cáncer de mama, pues en los tumores mamarios existe la presencia de la aromatasa y de enzimas hidrolíticas, esto quiere decir, que hay una sobreexpresión de estas enzimas y por consecuente un aumento en la producción de estrógenos (35).

Los estrógenos participan en el desarrollo de caracteres sexuales en la pubertad de las niñas, es decir, de la vagina, útero, trompas de Falopio y crecimiento mamario, también participan en las modificaciones que lleva el ciclo menstrual, modulan negativamente la liberación de la GnRH, provocando que no se libere LH y FSH hipofisarias y no ocurra la estimulación ovárica (19). En el caso de los niños, la deficiencia de estrógenos ocasiona un crecimiento lineal y continuo hasta la edad adulta. Tambien puede causar macroorquidia y aumento de gonadotropinas y testosterona, llegando afectar hasta la fertilidad en algunos individuos.

Los estrógenos participan en algunos efectos metabólicos, uno de los de interés es que provocan la síntesis de algunas proteínas hepáticas, tambien de progesterona, cortisol, estradiol y testosterona, hormonas tiroideas, de hierro y de cobre (19).

2.4.1 Receptores de estrógenos

Los dos genes del receptor de estrógenos son ESR1 que codifica el receptor estrogénico α y ESR2 que codifica al receptor β. Ambos son factores de transcripción activados por ligandos, que aumentan o disminuyen la transcripción de genes. Al penetrar las células por difusión pasiva a través de la membrana plasmática, la hormona se une a un receptor estrogénico en el núcleo (45).

El receptor de estrógenos ERα es mayormente expresando en el tejido femenino, en útero, vagina, ovarios, glándulas mamarias, hipotálamo, células endoteliales y músculo liso vascular. El ERβ se expresa en próstata y ovarios, con una expresión menor en pulmones, cerebro, hueso y vasculatura (35).

Ambos receptores por difusión pasiva atraviesan la membrana plasmática de las células, donde la hormona se une en el núcleo con el receptor. En el centro de la célula, los receptores de estrógenos están como monómeros inactivados con una proteína de choque de calor (HSP90) y cuando se une con los estrógenos, hay un cambio conformacional del receptor y ocurre la dimerización del receptor, aumentando la afinidad y la tasa de unión con receptor y DNA (46). La unión receptor-DNA activa la señalización en cascada de proteínas coactivadoras, entre otras, para los genes, permitiendo que las proteínas se ensamblen y se inicie la transcripción.

2.4.2 Estrógenos, andrógenos y cáncer

Las neoplasias originadas por mama o próstata pueden depender de hormonas para su crecimiento, función e integridad, es por ello por lo que estos carcinomas pueden conservar su respuesta humoral y al cambiar el entorno hormonal, es posible alterar la evolución del proceso neoplásico.

Estrógenos endógenos tienen un desarrollo en la progresión del cáncer de mama, por lo que bloqueadores de estrógenos son fármacos para el tratamiento de esta neoplasia (47). Tal como se ha mencionado anteriormente, los receptores ERα y ERβ se expresan en cáncer de mama, siendo el α, el más involucrado en la regulación del crecimiento (35).

Así mismo, algunos estudios de cáncer de próstata se han centrado en la investigación de vías biológicas que aporten a la carcinogénesis de la próstata, se incluyen vías de andrógenos y factor de crecimiento (48).

Los andrógenos son las hormonas sexuales masculinas, se regulan por eje hipotálamo-hipófisis-gonadal, donde la hormona liberadora de la hormona luteinizante (LHRH), estimula la liberación de la hormona luteinizante (LH), la cual incita a las células de Leydig y se induzca la síntesis de testosterona. Los andrógenos tienen un efecto tras la unión al receptor de andrógenos, que después actúa como un modificador transcripcional de varios genes que se unen a un elemento de respuesta de andrógenos. La via de los andrógenos es de los mecanismos de señalización importantes que se encuentran involucrados en el cáncer de próstata, sobre todo en genes que codifican enzimas que sintetizan testosterona y dihidrotestosterona (DHT): hidroxiesteroide (17-beta) deshidrogenasa-1, hidroxi-delta-5-esteroide deshidrogenasa, 5α-reductasa-1 y 2, CYP17, CYP34A1, CYP19A1 (48).

2.4.3 Aromatasa

La aromatasa se deriva del gen CYP19, en el cromosoma 15q21.2 que es expresado principalmente en ovarios y tejidos extragonadales como hígado, grasa subcutánea, hueso, cerebro, tejido endotelial vascular y células mesenquimales de tejido adiposo de la mama (49). En concentraciones más bajas se encuentra presente en tejidos como la grasa subcutánea, hígado, musculo, tejido encefálico, mama sana y tejido neoplásico de mama. La aromatasa produce la transformación de andrógenos suprarrenales, androstenediona y testosterona gonadal a estrógenos, estrona y estradiol. Específicamente cataliza la conversión irreversible de androstenediona en estrona y de testosterona a estradiol. Hay evidencia que el ARNm y la proteína aromatasa se encuentran en la hiperplasia benigna de próstata (HPB) y en tejido de cáncer de próstata. Esto debido a que la próstata se encuentra influenciada por el estrógeno de fuentes periféricas y de la aromatasa dentro del estroma, por lo que las variaciones genéticas del gen de la aromatasa, en este caso CYP19A1 altera el riesgo de que un individuo padezca cáncer de próstata (50).

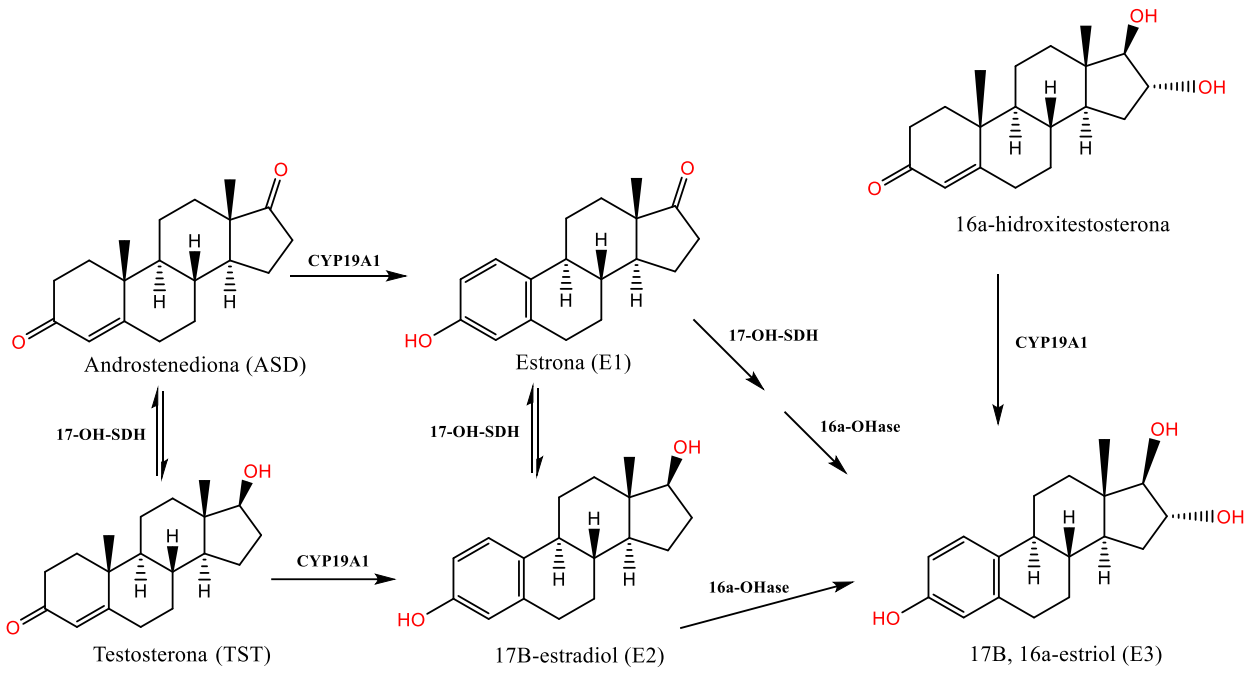


Figura 6. Biosíntesis de estrógenos

2.4.4 Inhibidores de la aromatasa

Se clasifican en inhibidores esteroideos y no esteroideos. Los inhibidores no esteroideos su acción es reversible y compiten con ligandos endógenos (Aminoglutetimida y triazoles: Anastrazol, Letrozol y Vorozol). Los inhibidores esteroideos son irreversibles, se unen a la enzima para transformarse a compuestos reactivos y se fijen covalentemente al sitio activo, inactivándolo hasta que el fármaco se elimine en su totalidad del organismo. Los disponibles son el Exemestano y Formestano (19).

Los inhibidores de la aromatasa reducen en grandes cantidades los niveles de estradiol en mujeres posmenopáusicas que padecen cáncer de mama dependiente de estrógenos.

I. Inhibidores de tipo I (esteroideos): unión irreversible a la aromatasa provocando la inactivación. El Formestano tiene mala biodisponibilidad por vía oral, se recomienda su administración vía intramuscular cada 2 semanas. El Exemestano

(figura 6) se administra por vía oral y es bien tolerable, sin embargo, presenta niveles de toxicidad provocando sofocos, náuseas, astenia, sudación y mareos (19).

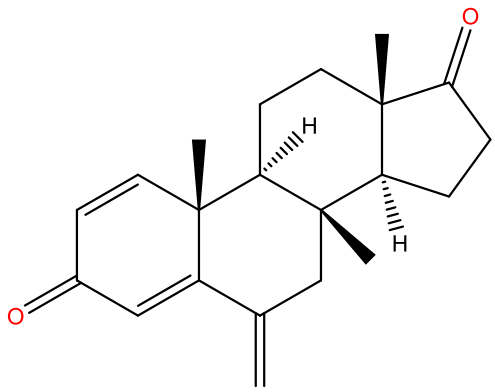


Figura 7. Estructura del Exemestano

II. Inhibidores de tipo II (no esteroideos): unión reversible con la enzima y competitiva. La Aminoglutetimida presenta efectos secundarios como letargia en un 40% de los casos, ataxia, exantema pruriginoso, hipotensión ortostática. El Anastrazol (figura 8) 1 mg/día de forma continua, ocasiona desde nauseas leves hasta lo preocupante que son sus niveles de toxicidad sobre articulaciones, con sensación de rigidez o edema que obliga a que se retire. Sin embargo, ha desplazado a otros fármacos en la segunda línea de cáncer de mama, pues se ha encontrado una mejoría en la supervivencia cuando se utiliza en primera línea y en el tratamiento adyuvante frente al tamoxifeno en pacientes posmenopáusicas (19).

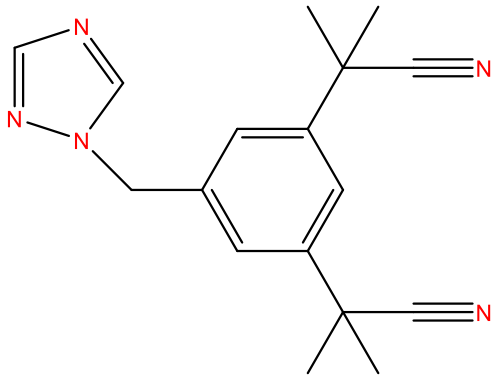


Figura 8. Estructura del Anastrazol.

Estos fármacos se encuentran disponibles comercialmente, pertenecen a la tercera generación de los inhibidores de aromatasa, cuentan con una alta especificidad para la aromatasa humana, no interfieren con la producción de otras hormonas esteroidales y son la terapia endocrina para el tratamiento de cáncer de mama específicamente del postmenopáusico. A pesar de ello, los niveles de estrógeno en el cuerpo provocan una disminución completa, debido a la inhibición de la enzima lo que conduce al desarrollo de efectos secundarios como dolor musculoesquelético, reducción de densidad osea, aumento de fracturas y padecimientos cardiovasculares (51).

2.5 Condensación con hidracinas

2.5.1 Cetonas y aldehídos

Una cetona está formada por dos grupos alquilo o arilo que se unen al átomo de carbono del grupo carbonilo (RCOR'). Un aldehído está formado por un grupo alquilo y un átomo de hidrógeno unido al carbono del grupo carbonilo (RCHO). En cuanto al grupo carbonilo, este es la unión doble enlace de Carbono con oxígeno (C=O) (51).

2.5.2 Hidrazonas

Los aldehídos y las cetonas pueden condensarse con derivados de amoniaco, como hidroxilamina e hidracinas para la formación de derivados de iminas (52).

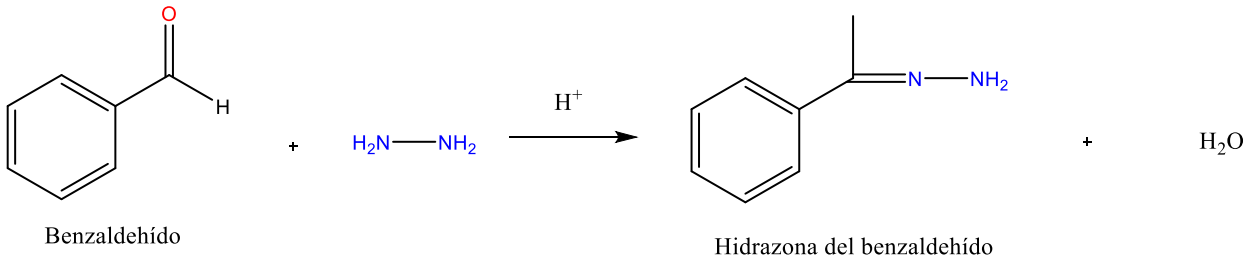


Figura 9. Mecanismo de formación de la hidrazona

En la hidracina $H_2N - NH_2$ ambos son nitrógenos nucleofílicos, donde el oxígeno carbonílico se remplaza por un grupo NNH_2 obteniendo así, la hidrazona. La hidrazona es un compuesto orgánico, que destaca por contener en su estructura un grupo azometina (-NH-N=CH-) (53). El doble enlace formado por carbono y nitrógeno es el resultado, del ataque nucleofílico de los pares de electrones libres que presenta la hidracina (54).

Las hidrazonas son compuestos orgánicos, los cuales han llamado la atención por la presencia del grupo azometina unido a un grupo carbonilo, haciéndolos responsables de diferentes actividades biológicas (55). Pertenecen a la clase de moléculas que tienen actividad biológica como: analgésica, antihelmíntica, anticonvulsivas, antidepresivas, antiinflamatorias, antipalúdicas, anticancerígenas y antibacterianas (56).

Las fenilhidrazinas son empleadas para la preparación de hidrazonas de cetonas y aldehídos. Por ejemplo, el producto de la reacción de una cetona con 2,4-dinitrofenilhidrazina es una 2,4-dinitrofenilhidrazona es un sólido de color naranja-rojizo brillante, que se utiliza como prueba

cualitativa de la presencia de un aldehído o cetona. Los derivados de estas reacciones se usan como materias primas para otro tipo de reacciones (57).

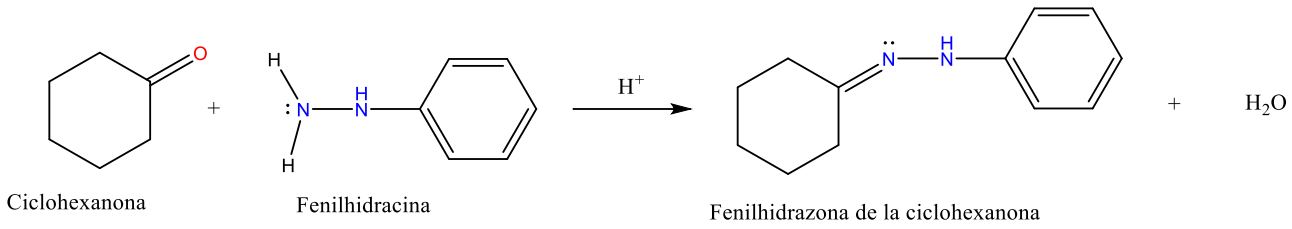


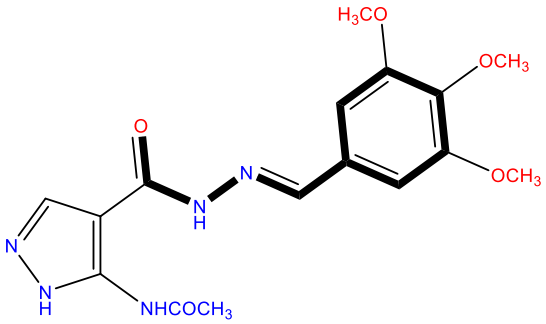
Figura 10. Mecanismo de formación de la fenilhidrazona.

2.6 Actividad farmacológica

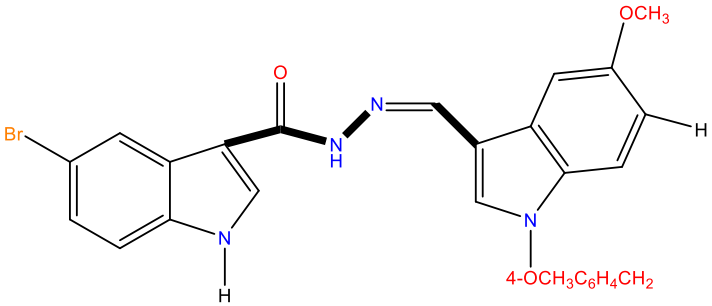
2.6.1 Anticancerígena

El incremento de la tasa de incidencia de cáncer a lo largo de los años ha llevado al desarrollo y descubrimiento de nuevos fármacos para el tratamiento de cáncer, por lo que, las hidrazonas han mostrado actividad importante.

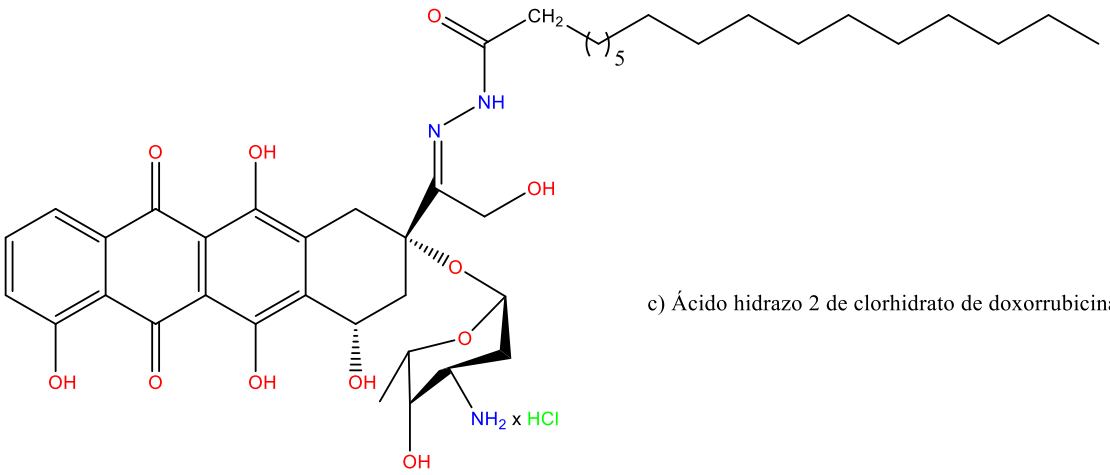
Se han sintetizado compuestos activos contra líneas celulares de cáncer de mama (58). Asi mismo, existen derivados de hidrazona a partir de pirazol, potentes para el tratamiento de carcinoma de mama (figura 11a) (59). Síntesis de hidrazona que parten en bis (indol) activas para diferentes líneas celulares de cáncer (figura 11b) (60). Derivado de hidrazona con una actividad potente para leucemia HL-60 y melanoma 518 A2 (figura 11c) (61). Las acilhidrazonas han mostrado tener actividad contra células leucémicas promielóciticas humanas (HI-60) (62). Existen derivados de hidrazonas a partir de cobre que actúan sobre la integrina β4 en líneas de carcinoma de pulmón H322 (63).



a) Pirazol [3,4-d] pirimidinas 17d



b) Bis (indol) hidrazina-hidrazona (5K)



c) Ácido hidrazo 2 de clorhidrato de doxorrubicina

Figura 11. Estructura de algunos derivados de hidrazona aplicados para el tratamiento de cáncer.

En los últimos años el estudio a los derivados de la hidrazona ha ido incrementando, sobre todo su relación con el cáncer donde se han informado más derivados de los ya mencionados que actúan sobre líneas celulares de leucemia, colon, ovario, riñón, pulmón y cáncer de mama.

2.7 Diseño de fármacos asistido por computadora

El diseño de fármacos asistido por computadora se encuentra conformado por distintas disciplinas, como la quimioinformática, química teórica y química computacional. El avance en esta área ha permitido el fácil acceso y uso de algunos programas y aplicaciones computacionales. Si bien, el procesamiento de datos de forma general puede ser rápido, permite

la elección de métodos, el análisis e interpretación de datos es laborioso. El principio por el que se rige este diseño es el de comprender las relaciones estructura-actividad biológica o farmacológica de compuestos (64).

El área de la farmacia ha tenido un progreso muy significativo en métodos espectroscópicos biomoleculares, como la cristalografía de rayos X y resonancia magnética nuclear (RMN), principalmente en materias como la biología molecular y estructural. El uso de estas técnicas ha permitido la resolución de más de 100 000 estructuras tridimensionales (3D) de proteínas, proporcionando información estructural importante sobre dianas farmacológicas macromoleculares y puedan emplearse en el diseño de fármacos (65).

2.7.1 Diseño de fármacos basado en la estructura

La disposición de miles de estructuras tridimensionales de proteínas y su actividad terapéutica ha favorecido que este campo sea más explotado, por lo que es más fácil la identificación de los sitios de unión estableciendo el desarrollo del diseño de fármacos basado en estructuras (66).

El diseño de fármacos basado en estructuras es un proceso característico por ser especifico, eficiente y potente. Se acompaña de herramientas computacionales para dar paso a una tecnología eficiente para acelerar el proceso de descubrimiento de fármacos, que incluye diferentes procedimientos de detección, química combinatoria y cálculos de propiedades como la absorción, distribución, metabolismo, excreción y toxicidad (67).

Este método utiliza los datos estructurales de las dianas macromoleculares o receptores, que se obtienen experimentalmente o por homología computacional. Permite el diseño de ligandos que tienen características necesarias para una modulación eficiente de la diana biológica (68). Los ligandos son moléculas pequeñas que permiten la interacción entre o dentro de las células.

La modulación selectiva de la diana farmacológica con el ligando de alta afinidad interfiere a procesos celulares que conducen a efectos farmacológicos y terapéuticos deseados (69).

2.7.2 Diseño de fármacos basado en el ligando

El diseño de fármacos basado en ligandos se emplea cuando se desconoce la estructura tridimensional del receptor y se basa en la información de las moléculas que se unen a la diana biológica de interés (70). Se realiza un estudio de las moléculas del ligando que se unen a la diana para entender sus propiedades estructurales y fisicoquímicas (71).

2.7.3 Cribado virtual

El cribado virtual es un método *in silico* de moléculas para seleccionar a las dianas y realizar la evaluación experimental (72). Este método pretende reducir significativamente el número de ensayos biológicos que se lleven a cabo. Sin embargo, el cribado debe ir acompañado con ensayos experimentales para hacer válidas las predicciones realizadas del ensayo *in silico* (5)

El cribado virtual tiene distintos filtros que varían de acuerdo con la complejidad de la base de datos y de la información experimental que se tenga. Esto con el fin de elegir una mejor técnica, por ejemplo, si se conoce la estructura tridimensional (3D) del receptor, entonces se sugiere realizar el cribado basado en la estructura, empleando el acoplamiento molecular. Si se conocen los compuestos activos, pero el receptor no, entonces se puede realizar una búsqueda del ligando, por similitud molecular. Y si se conocen tanto la estructura 3D del receptor y los compuestos activos, se puede realizar una búsqueda que combine ambos, como descriptores moleculares y propiedades farmacocinéticas (5).

2.7.4 Acoplamiento molecular

El acoplamiento molecular es una técnica de simulación virtual de interacción molecular; predice la conformación y la unión de ligandos dentro de un sitio activo específico con alta precisión, (figura 12) formando un complejo estable (73).

La estructura de la diana a estudiar que se obtiene por medio de una alta resolución con rayos X o RMN y con un grado sustancial de precisión el sitio de unión da parte al inicio de un posible diseño de un fármaco basado en la estructura por medio del acoplamiento (74).

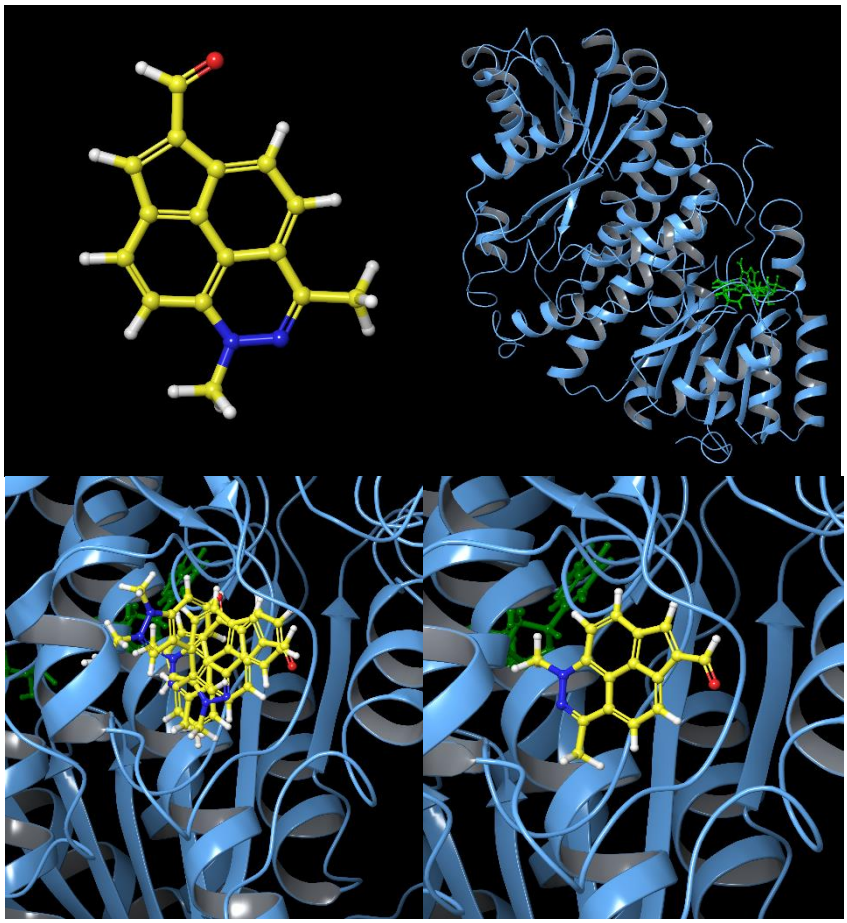


Figura 12. Proceso de acoplamiento molecular. A) Estructura tridimensional del ligando (FOSLAC); B) Estructura tridimensional del receptor (2IRW); C) Acoplamiento del ligando a la cavidad de unión del receptor; D) Identificación de la conformación de unión más probable. Extraído de Maestro 13.8

El procedimiento empieza con el empleo de algoritmos de acoplamiento, para identificar ligandos potenciales o ligandos conocidos a partir de una biblioteca de compuestos químicos y poder predecir el sitio de unión. Los algoritmos usados se complementan con funciones de puntuación diseñadas para predecir la actividad biológica a través de la evaluación de las interacciones entre los compuestos y las posibles dianas del fármaco (74).

Los métodos sistemáticos y estocásticos se incluyen en los programas de acoplamiento molecular, cada uno tiene un enfoque específico para sus respectivos problemas. Los métodos de búsqueda sistemático exploran todas las combinaciones de los parámetros estructurales; programas como FRED, Surflex y DOCK resuelven este tipo de problemas por aplicación de un algoritmo de construcción incremental en el que el ligando se construye progresivamente en el sitio de unión (73).

En los métodos estocásticos se aplican algoritmos genéticos (AG) que se usan de acuerdo con su éxito en programas de acoplamiento como AutoDock y Gold (75). El algoritmo genético codifica los parámetros estructurales de la estructura inicial en un cromosoma, representado por un vector. A partir del cromosoma se genera una búsqueda aleatoria de una población inicial de cromosomas cubriendo en su mayoría el ambiente energético. Se realiza una evaluación de la población y se seleccionan los mejores cromosomas, los que tienen valores energéticos más bajos. El objetivo de este procedimiento es reducir la energía media del conjunto cromosómico transmitiendo características estructurales favorables de una población a otra y así reducir el espacio conformacional a explorar (76).

2.7.5 Funciones de puntuación

La función de puntuación permite al acoplamiento a profundizar en el sitio de unión del ligando. Ya que se identifica la conformación de unión, se calcula la afinidad de unión (66). Las funciones de puntuación se clasifican en cuatro clases: campo de fuerza, empírico, basado en el conocimiento y aprendizaje automático (77).

El campo de fuerza se calcula con la estimación de las interacciones intermoleculares, como fuerzas electrostáticas, fuerzas de Van der Waals entre los sitios de unión. La función empírica se calcula de acuerdo con el número de átomos en el ligando y la proteína diana que se usan para la predicción de afinidad (78), aparte utiliza al método de regresión lineal múltiple para el ajuste de los coeficientes de la puntuación. La función de puntuación basada en el conocimiento dependerá de los potenciales estadísticos de las interacciones intermoleculares; supone que los grupos funciones que ocurren con frecuencia o ciertos tipos de átomos son energéticamente favorables y contribuyen a la afinidad de unión (79).

Los métodos de aprendizaje automático son técnicas para la construcción y optimización de modelos para la predicción de un sitio de unión y afinidad, únicamente con interacciones del ligando y el objetivo (66).

2.7.6 Quimioinformatica y bases de datos

La quimioinformatica o ciencia química de la información, es una herramienta que combina a los recursos informáticos y datos químicos, para organizar, extraer, visualizar y analizar la diversidad de la cobertura del espacio químico (79). Esta herramienta tiene como objetivo el analizar eficientemente muchos datos, por medio de organizar la información, visualizar el

espacio químico, hacer minería de datos y establecer asociaciones matemáticas entre la estructura y actividad (5).

Las bases de datos de compuestos son fuente importante para el almacenamiento, extracción e intercambio de información química y biológica (79). Muchas de estas bases de datos contienen millones de estructuras con información de su actividad biológica principalmente, siendo fundamentales para el desarrollo y descubrimiento de nuevos fármacos (65). Dentro de estas bases de datos se pueden encontrar a PubChem, ChEMBL, Binding Database, entre otros (80).

Existe variedad en las aplicaciones de estas herramientas, no solo en la farmacia, sino también en el área de química analítica y química orgánica. Los análisis que se realizan con estas herramientas se basan en al menos tres aspectos: propiedades fisicoquímicas, diversidad estructural y distribución en el espacio químico (65).

2.7.7 Base de datos cristalográfica de Cambridge

El sistema de base de datos estructural de Cambridge (CSD) descrito desde 1965, cuenta con un registro de más de 1.25 millones de estructuras tridimensionales con datos de estudios de difracción de neutrones y rayos X de monocristales de compuestos orgánicos y orgánicos metálicos. Los resultados registran, coordenadas atómicas 3D, dimensiones de la celda, grupo espacial, diagrama químico 2D y características básicas, así como también cuenta con una conexión con capacidad de búsqueda de referencia bibliográfica (81).

El sistema CSD incluye software como ConQuest, Mercury y Vista. ConQuest es una herramienta que permite búsquedas en todos los campos del CSD, específicamente de estructuras químicas e interacciones intermoleculares definidas en 2D y con restricción geométrica 3D. Igualmente localiza estructuras cristalinas importantes y genera descriptores geométricos (82).

Mercury es un visualizador de estructuras en formato 3D con funcionabilidad para ver cristales, empaquetar y mostrar patrones de interacción intermolecular (83).

2.7.8 SwissTargetPrediction

El enfoque bioinformático y quimioinformático que se han establecido, proporcionan un apoyo eficiente para la estimación de los objetivos más probables de moléculas pequeñas (84). Los métodos de predicción de dianas se clasifican dentro de las categorías del diseño molecular asistido por computadora, es decir, que se basan en la estructura tridimensional de las proteínas o en sus ligandos, tal como se ha descrito anteriormente (85).

SwissTargetPrediction (86) es una herramienta computacional, disponible en la web desde 2014, realiza predicciones de dianas basadas en ligandos para cualquier molécula pequeña bioactiva. El método que utiliza permite un cribado inverso hacia bibliotecas químicas (85). La predicción que realiza, la calcula por similitud entre los compuestos de consulta del usuario y los recopilados de las colecciones seleccionadas y limpias de los activos conocidos en ensayos de unión ya definidos (7).

El principio utiliza la similitud 2D y 3D, se basa en que dos moléculas similares que se encuentren representadas por vectores análogos exhiben una similitud cuantificada cercana a 1. El modelo de SwissTargetPrediction ajusta una regresión logística múltiple en varios subconjuntos relacionados con el tamaño de los activos conocidos y así poder ponderar los parámetros de similitud 2D y 3D en lo que se denomina puntuación combinada. Una puntuación combinada que supere a 0.5 predice que es probable que las moléculas compartan una diana proteica común (85).

2.7.9 UniProt

UniProt es una base de datos con una colección muy grande de proteínas, permitiendo la navegación dentro de la plataforma y acceso a la información funcional y secuencial. Esta herramienta se compone por dos recursos: el primero es UniProtKB/Swiss-Prot que contiene entradas seleccionadas y revisadas manualmente con más de 550 000 secuencias; esto va incrementando, dependiendo del desarrollo de nuevas proteínas. UniProtKB/TrEMBL aporta 60 millones de secuencias, en su mayoría derivadas de la secuenciación de ADN de alto rendimiento; las entradas que se realizan son por sistemas automáticos basado en reglas, creadas por los expertos (87,88).

También UniRef proporciona conjuntos de secuencias que se dividen en varios niveles de identidad de secuencia (89). Así mismo, el archivo UniProt anteriormente UniParc proporciona un conjunto de secuencias conocidas que se incluyen en secuencias archivadas y obsoletas (90).

2.7.10 Protein DataBank

El banco de datos de proteínas (PDB, por sus siglas en inglés) fue el primer recurso de datos digitales, que inició en 1971 con menos de diez estructuras cristalográficas de rayos X de proteínas (91). El PDB es un repositorio de datos de estructura tridimensional (3D) de macromoléculas biológicas (92). Este archivo contiene información completa de estructuras provenientes de cristalografía, RMN y 3EDM (93). Además de datos acerca del contenido químico, secuencia del polímero y química del ligando, también incluye información acerca de métodos de procesamiento de datos/software/estadísticas, procedimientos de determinación de estructura y características estructurales, como la secundaria y cuaternaria (94).

La base de datos también cuenta con imágenes de difracción que están respaldadas por dos recursos independientes del PDB, uno es el Recurso Integrado para la Reproducibilidad en Cristalografía Macromolecular (IRRMC) y el Consorcio de Cuadrícula de Datos de Biología Estructural (SBGrid), usan identificadores de objetos digitales facilitando su acceso (95).

La información contenida en el PDB es evaluado y enviado por científicos de todo el mundo, a sitios de los fundadores que son el PDB RCBS (EE. UU.), la Base de Datos de Estructura Macromolecular del Instituto Europeo de Bioinformática (MSD-EBI) y el Banco de Datos de Proteínas de Japón (PDBj) (94).

III. PLANTEAMIENTO

El desarrollo de nuevos fármacos a lo largo de los años se ha realizado por métodos clásicos o tradicionales comprendidos por diferentes etapas, una de ellas es el estudio toxicológico, donde se realizan las pruebas toxicológicas se realiza *in vitro* y son muy importantes ya que, la mayoría de las moléculas que son sometidas a la prueba, la fallan, pues afectan procesos fisiológicos y por ellos no pueden utilizarse en seres humanos, aproximadamente de cada 10 000 moléculas activas solo una es de interés clínico (96).

En general, el proceso y desarrollo de fármacos es largo y complejo debido a que, involucra grandes costos y pocas probabilidades de éxito (97). Por el contrario del método tradicional mencionado anteriormente, en los últimos años se ha introducido un método racional de fármacos o farmacología inversa, el cual promete ser más eficiente y económico, donde el primer paso es la identificación de proteínas dianas potenciales por medio de bases, para después utilizar métodos computacionales (66).

El diseño de fármacos por métodos computacionales emplea bases de datos que contienen información valiosa sobre la actividad biológica de millones de estructuras. Este diseño se acompaña de métodos capaces de determinar estructuras biomoleculares y se ha logrado introducir estructuras tridimensionales (3D) de más de 100 000 proteinas, teniendo estas técnicas sofisticadas, cada día más al alcance, permitiendo que la disposición de estas proteinas con importancia terapéutica favorezca la identificación de dianas (64). Tambien se utilizan técnicas como el cribado virtual, acoplamiento molecular y simulaciones de dinámica molecular, que permiten analizar la energía de unión, interacción ligando-proteína, evaluación de cambios conformaciones en la estructura durante el acoplamiento (98).

Actualmente el diseño de fármacos asistidos por computadora ha sido de mucha demanda, tanto que se encuentran disponibles herramientas bioinformáticas algunas de ellas en línea de libre acceso, en donde se facilita el diseño de fármacos desde la identificación de la diana terapéutica hasta la resolución de un acoplamiento. Por lo anterior, ha surgido el interés y se ha planteado la siguiente pregunta: ¿Qué tipo de interacción a nivel molecular se puede obtener de compuestos derivados de la metilfenilhidrazona frente a biomoléculas con actividad biológica, utilizando herramientas bioinformáticas?

IV. JUSTIFICACIÓN

El diseño de fármacos asistido por computadora (DIFAC) tiene como objetivo el entender las relaciones estructura-actividad biológica o farmacológica de los compuestos (58). Este diseño ha implementado una de las técnicas que está teniendo un mayor auge en la actualidad, el acoplamiento molecular automatizado o docking molecular (5).

Las moléculas propuestas para el estudio son derivados de la metilfenilhidrazonas, pertenecen a la familia de las hidrazonas, son un conjunto de compuestos variables y que actualmente han llamado mucho la atención por sus características de ser agentes bioactivos potenciales y con una prometedora amplitud de actividades farmacológicas (55). De este modo, el diseño de fármacos asistido por computadora tiene diferentes ventajas, que se aplican en este estudio, siendo una de las principales la optimización del tiempo y la reducción de costos para el descubrimiento o diseño de fármacos de forma tradicional.

Por estas razones surge la idea de llevar a cabo un estudio más detallado para poder observar las interacciones que puede llegar a tener, conocer el tipo de dianas biológicas con las que interactúan y sí existe alguna aplicación farmacéutica.

Debido a que el acoplamiento molecular automatizado tiene como principio buscar la conformación y posición optima de un ligando dentro de un blanco molecular o la posición y conformación más favorable de 2 macromoléculas (65) y es precisamente uno de los objetivos que tiene la presente investigación. Además, previo al acoplamiento molecular se realizará lo que hoy podemos denominar cribado virtual. El cribado virtual es un filtrado *in silico* de moléculas para poder seleccionar a nuestras dianas y hacer su evaluación (5). De esta forma se puede conocer información más específica, desarrollando compuestos

potenciales para fármacos. Al emplear equipos de cómputo y el uso de programas, bases de datos y/o bibliotecas químicas disponibles en línea, se puede realizar el cribado virtual.

V. HIPÓTESIS

Las enzimas 11βHSDS1 y el CYP19A1 han demostrado estar presentes en la progresión del cáncer de tipo hormona-dependiente. Por lo tanto, se espera que los compuestos derivados de la metilfenilhidrazona al ser compuestos activos con potencial actividad farmacológica, revelen por medio del acoplamiento molecular, tener una buena interacción con estas enzimas y poder contribuir en un posible tratamiento para el cáncer de mama y cáncer de próstata.

VI. OBJETIVOS

6.1 Objetivo General

Evaluar la actividad producida entre las enzimas 11βHSDS1 y CYP19A1 contra compuestos cristalinos derivados de la metilfenilhidrazona mediante la técnica de acoplamiento molecular.

6.2 Objetivos Particulares

- Analizar el nivel energético de los compuestos derivados de la metilfenilhidrazona con las enzimas 11βHSDS1 y CYP19A1.
- Interpretar que tipo de interacción molecular tienen los compuestos y cuáles son las que activan o bloquean a las enzimas 11βHSDS1 y CYP19A1.
- Establecer si los compuestos derivados de la metilfenilhidrazona a nivel espacial tienen relación con la especificidad del sitio.

VII. METODOLOGÍA

El desarrollo de este trabajo se realizó en Laboratorio de Elucidación y Síntesis en Química Orgánica en la división de Bioinformática con el Software Schrödinger licenciado bajo el Proyecto Pronaces 317580.

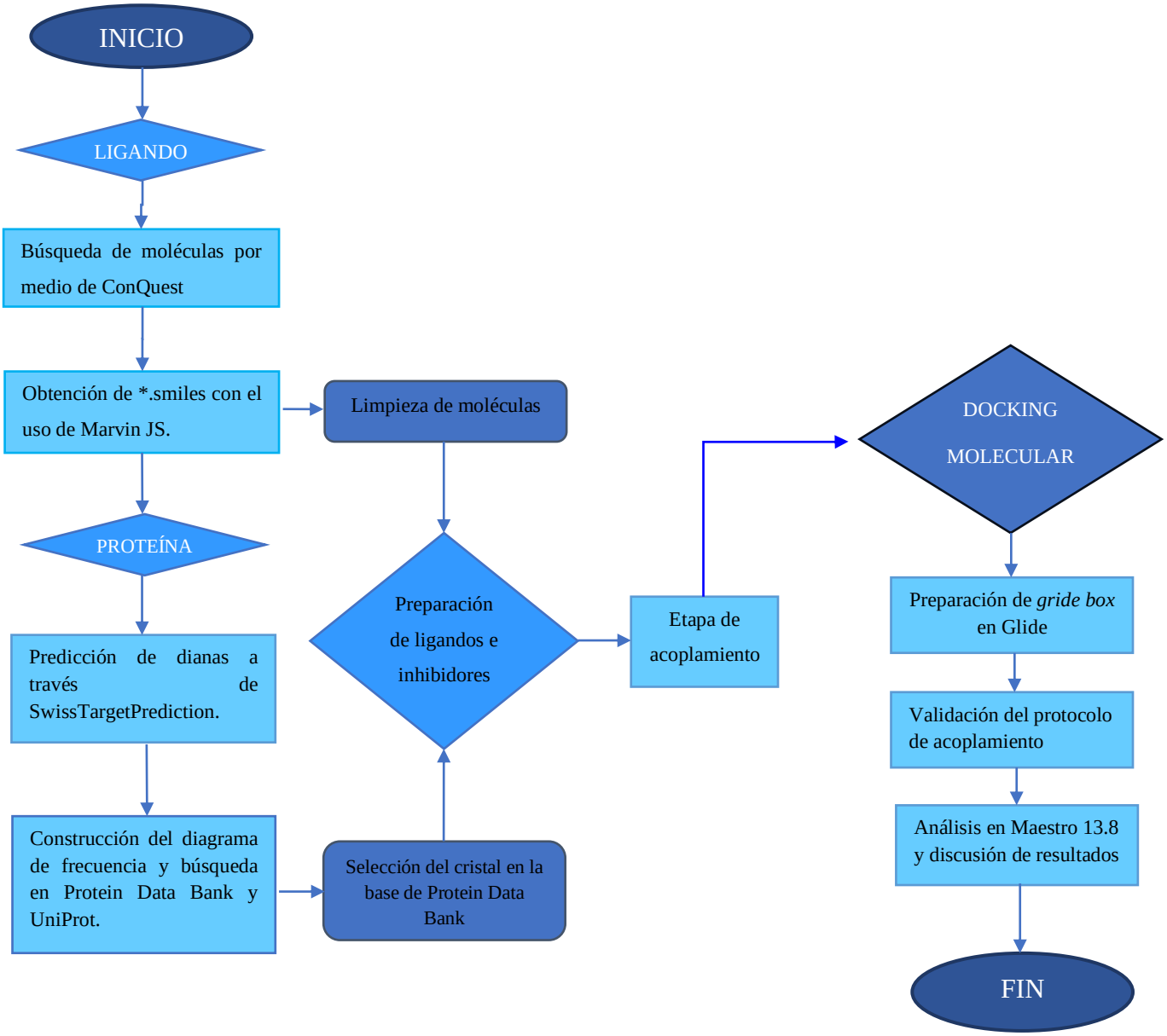


Figura 13. Diagrama de flujo; descripción de los pasos realizados para este estudio.

7.1 Selección y preparación de metilfenilhidrazonas

En el presente estudio se utilizaron 96 moléculas derivados de la metilfenilhidrazona (Anexo 1) las cuales se obtuvieron por medio de la base cristalográfica de Cambridge (CCDC) (99) a través del programa ConQuest 2023. Los resultados de la búsqueda se realizaron por medio del dibujo de su estructura, donde se obtuvieron 136 moléculas similares, se realizó un análisis de

cada una de las moléculas para comprobar que cumplieran con el criterio de moléculas orgánicas, las cuales son de nuestro interés y las que no lo fueran, se descartaron, quedando así un total de 96 moléculas para el estudio. Además, las claves empleadas para cada una de las moléculas, por simplicidad, fueron tomados tal cual se encuentran en la base de datos de Cambridge.

Al tener seleccionadas las moléculas, se obtuvo de cada una, su estructura en formato *. mol2 y mediante, Mercury 2022.3 (100) se limpiaron, es decir, que a la estructura tridimensional se le eliminaron las moléculas de cocristalización que pudieran tener, algunos de ellos fueron, agua, yodo, bromo, oxigeno, (contraiones) para obtener el esqueleto aislado de la metilfenilhidrazona.

7.2 Selección de las dianas biológicas

Para realizar la búsqueda y elección de las dianas biológicas se utilizó un diagrama de frecuencia porcentual. Para ello se realizó una búsqueda de información utilizando SwissTargetPrediction (86), donde por medio de las metilfenilhidrazonas, el sistema de comparación por estructura 3D y con los ligandos que cuenta la plataforma, se obtuvieron diferentes dianas, por lo que a través del diagrama de frecuencia acumulada y un análisis breve de las principales dianas en UniProt (101), se eligió la 11βHSDS1 porque presento el valor más alto en el diagrama, la cual tiene relación con el desarrollo del cáncer hormona-dependiente y CYP19A1 ya que tiene relación con el mismo tipo de afección cancerosa.

7.3 Selección de los inhibidores de referencia

Se consideraron cinco inhibidores de referencias, dos de la enzima 11-beta-hidroxiesteroide-deshidrogenasa 1, la Carbenoxolona y Cortisona como sustrato endógeno, y para el Citocromo P450 19A1, son tres, el Exemestano, Anastrazol y Testosterona, este último como sustrato endógeno (102,103). Para poder identificar a los inhibidores, se necesitan tener referencias con actividad biológica ya determinada, por esta razón, los inhibidores mencionados tienen en común

es su relación con el cáncer, en algunos estudios se menciona que se aplican como tratamientos en cáncer de mama, de próstata, de ovario, entre otros. Con el estudio se busca la posibilidad de que las moléculas propuestas, presenten algún tipo de actividad farmacológica, por lo que los inhibidores brindaran información necesaria para realizar una comparación entre ellos.

7.4 Preparación de ligandos.

De las enzimas seleccionadas, se obtuvo su estructura tridimensional y su forma cristalizada en la plataforma de Protein Data Bank (104) con los códigos 2IRW (11βHSDS1) y 3EQM (CYP19A1). Por medio del *Protein Preparation Wizard* (105) del programa Suite Schrödinger, las enzimas fueron procesadas. Se verificó y se ajustó la integridad estructural a través del programa Prime (106) se agregaron repeticiones faltantes y segmentos de nudos cerca del sitio activo. Se añadieron átomos de hidrógeno a cada enzima para que estuvieran en su estado original. Se realizó una protonación y estados tautoméricos de aminoácidos como Asp, Glu, Arg, Lys y His y se llevó a un pH de 7.4. La orientación de los enlaces de hidrógeno recibió un ajuste alrededor del sitio activo, para ello se usó PROPKA a un pH de 7.4 y las moléculas de agua fueron eliminadas dentro de una esfera de 5 Å en el sitio activo. Para finalizar, el complejo proteína-ligando se minimizó con un campo de fuerza OPLS4 (107), con un RMSD de 0.3 Å (108).

7.5 Preparación de inhibidores de referencia

Los inhibidores de referencia se obtuvieron a partir de cristales, se diseñaron con el programa 2D Sketcher de Maestro 13.8 de la paquetería de Schrödinger Suite para la conversión de sus conformeros tridimensionales, los cuales son más estables. Se prepararon en LigPrep (109) también de Schrödinger Suite. Se obtuvieron las estructuras 3D, se preparó un campo de fuerza OPLS4 y cargas en todas sus etapas. Los posibles centros protonados y los estados de ionización

fueron calculados, por medio de un ionizador a un pH de 7.4 para la plataforma. Los estereoisómeros se mantuvieron de acuerdo con sus estructuras originales, únicamente a 32 isómeros cada uno. Así mismo se generaron estados tautoméricos para los grupos y se seleccionaron conformadores con menor energía para cada ligando.

7.6 Acoplamiento Molecular

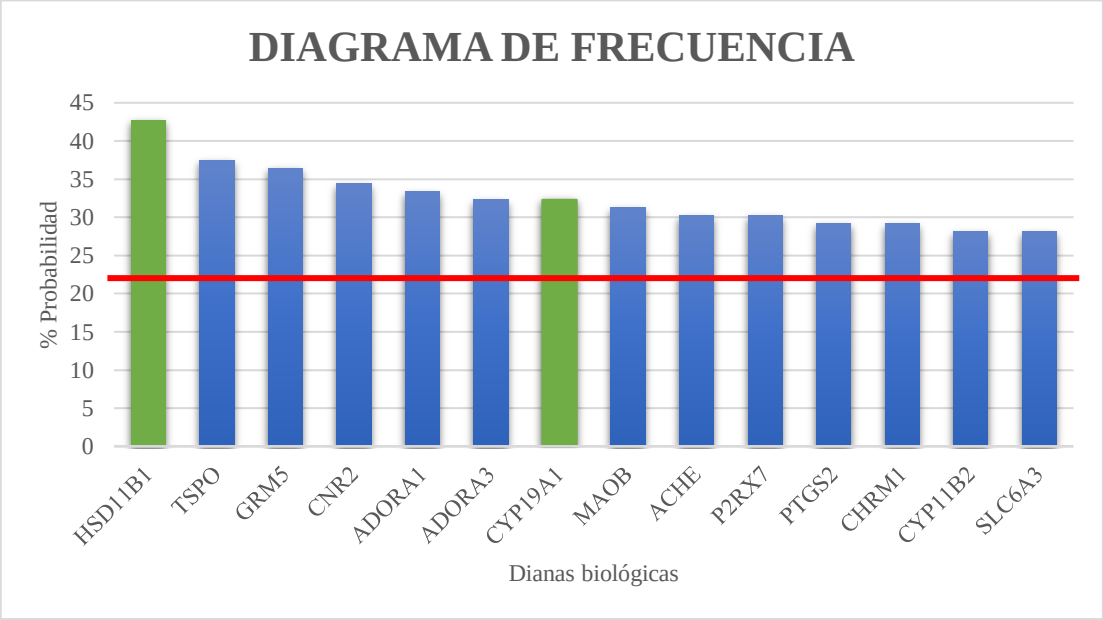
Para realizar el docking o acoplamiento molecular entre los sitios de unión y los ligandos, se usó el programa Glide (110) de Maestro 13.8 y la *gride box* de los receptores para cada diana se preparó con OPLS4. La *gride box* se construyó con base a los inhibidores de referencia cocristalizados.

Por último, se usó el programa Maestro para la visualización de las representaciones en 3D, 2D, interacción proteína-ligando y el nivel energético de cada una de las moléculas. Se realizó una depuración de las partes no polares de los inhibidores al ampliar los radios de Van der Waals en un factor de 0,8. Para determinar si un átomo se consideraba no polar, su carga atómica parcial absoluta tenía que ser > 0.25. En el caso de la flexibilidad se le permitieron rotaciones adicionales de los ligandos, específicamente para grupos hidroxilo en aminoácidos como, SER, THR y TYR, y en los grupos tioles en residuos CYS. Se mantuvo la posición de unión más baja de cada ligando. Las puntuaciones de acoplamiento se pueden realizar en tres diferentes modos, por detección virtual (HTVS) de alto rendimiento, por precisión estándar (SP) y precisión adicional (XP). Antes de que las moléculas se acoplaran, se realizó un acoplamiento con los inhibidores de referencia de las respectivas dianas, para validar el protocolo de acoplamiento. Para que finalmente, se utilizará el modo XP para acoplar.

VIII. RESULTADOS

8.1 Diagrama de frecuencia

El estudio realizado en la base de SwissTargetPrediction (86), en el cual se predicen las dianas de tipo proteica más probable de moléculas pequeñas por medio de una búsqueda de similitud de moléculas en su forma 2D y 3D para que de esta manera se determine si las estructuras sometidas a estudio tienen un potencial biológico o no. En el siguiente gráfico se observa a las principales posibles dianas y la frecuencia de interacción (111) que tienen con las estructuras derivadas de metilfenilhidrazona.



Gráfica 1. Frecuencia porcentual de dianas biológicas para derivados de la metilfenilhidrazona.

La interacción entre las estructuras de las moléculas presentadas y las dianas biológicas se obtuvo en más de 800 objetivos. A partir de ello, se seleccionaron 14 proteínas, ya que muestran una frecuencia superior al 30% y fueron las más representativas las que superan

este porcentaje presentan efectos biológicos y es más probable su interacción con los derivados de la metilfenilhidrazona y los que se encuentran por debajo de este porcentaje, ya no son considerados para ser dianas principales, sino más bien dianas secundarias.

Tabla 1. Principales dianas terapéuticas y su porcentaje de interacción con las estructuras derivados de metilfenilhidrazona.

DIANA	TIPO	UBICACIÓN SUBCELULAR	% INTERACCIÓN	OPORTUNIDAD TERAPEUTICA
11βhidroxiesteroide deshidrogenasa 1 (HSD11B1)	Enzima	Membrana del retículo endoplásmico	43%	Cáncer hormona-dependiente Obesidad Síndrome metabólico Diabetes Enfermedad de Alzheimer [112]
Proteína translocadora (TSPO)	Receptor de membrana	Membrana mitocondrial	38%	Enfermedades neurodegenerativas [113]
Receptor metabotrópico de glutamato 5 (GRM5)	Receptor acoplado a proteínas G de la familia C	Membrana celular	36%	Síndrome X frágil Autismo Ansiedad Depresión Adicción Trastornos del movimiento [114]
Receptor cannabinoide 2 (CNR2)	Receptor acoplado a proteínas G de la familia A	Membrana celular; proyección celular, dendrita; pericarion	34%	Dolor Cáncer Enfermedades neurodegenerativas [115]
Receptor de adenosina A1 (ADORA 1)	Receptor acoplado a proteínas G de la familia A	Membrana celular	33%	Enfermedades neurológicas [116]

Receptor de adenosina A3 (ADORA 3)	Receptor acoplado a proteínas G de la familia A	Membrana celular	32%	Afecciones isquémicas Asma Artritis Glaucoma Cáncer [117]
Citocromo P450 19A1 (CYP19A1)	Citocromo P450	Membrana del retículo endoplásmico; membrana de microsomas	32%	Cáncer hormona dependiente [118]
Monoamina oxidasa B (MAOB)	Oxidorred uctasa	Membrana externa de las mitocondrias	31%	Enfermedad de Parkinson [119]

De acuerdo con la oportunidad terapéutica que tienen cada una de las principales dianas, se eligió a la enzima 11βHSDS1 y CYP19A1, ya que ambos tienen evidencia bibliográfica de ser posibles candidatos para el tratamiento farmacológico en enfermedades como el cáncer hormona-dependiente, donde ya se ha mencionado su papel anteriormente. Por esta razón se eligieron estas dos dianas para continuar con el estudio.

8.2 Análisis energético

La energía de unión que se da entre el ligando y el receptor, de acuerdo con los algoritmos del programa se realiza una clasificación de las energías y la configuración del compuesto más alta corresponde a una energía de unión más favorable, por lo que puede ser considerado como un potencial cabeza de serie (120).

El nivel energético es uno de los resultados que se obtiene al realizar el acoplamiento molecular, esto en función con las estructuras de la metilfenilhidrazona y las dianas terapéuticas, tal y como se muestra en los siguientes gráficos.

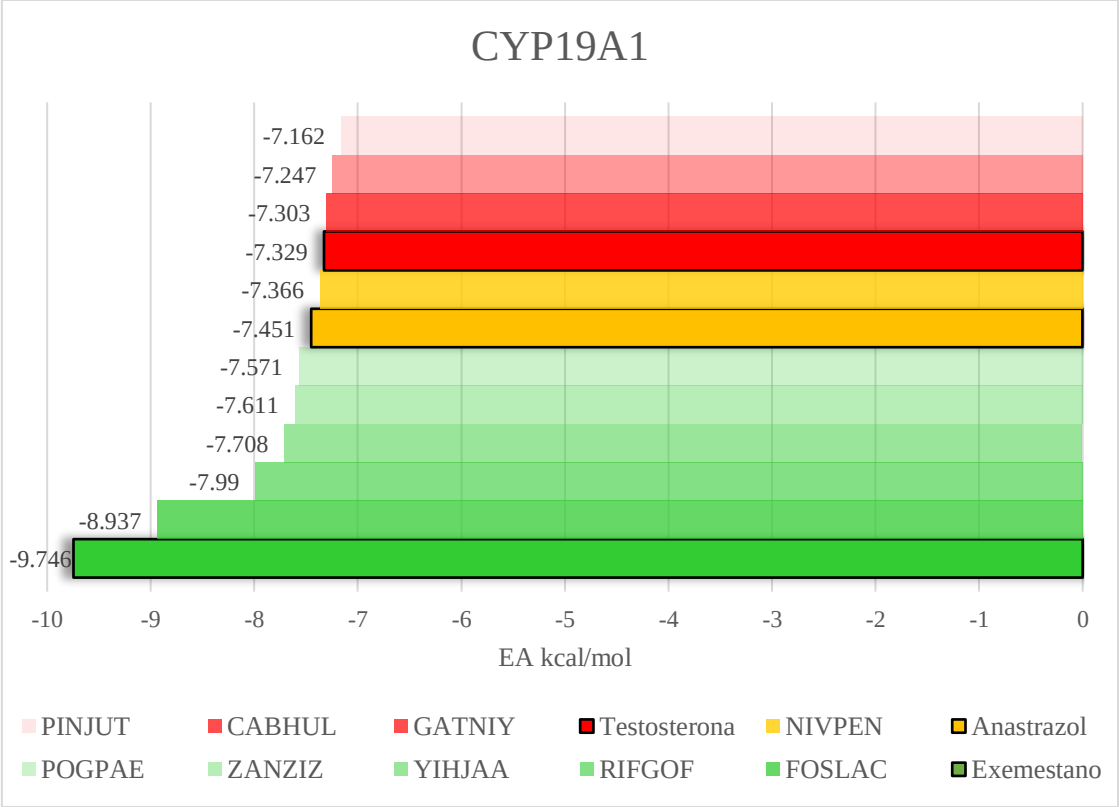


Gráfico 2. Análisis a nivel energético de la diana CYP19A1.

Tal y como se observa en el gráfico 2, se muestran los principales resultados de los cuales se puede realizar una distinción, ya que se han utilizado a los 3 principales inhibidores de la CYP19A1 que son el Exemestano, Anastrazol y Testosterona, este último como sustrato endógeno. Si bien el Exemestano presenta una energía de -9.746 kcal/mol, sin embargo, este fármaco en uso prolongado presenta niveles de toxicidad, esto debido al alto nivel de acoplamiento mostrado, por lo que compuestos que se encuentren por debajo de este, pueden ser buenos candidatos. El Anastrazol presenta una energía de -7.451 kcal/mol y muy cerca la Testosterona por -7.329 kcal/mol, que es el sustrato endógeno, lo cual mientras tengan más energía que el sustrato endógeno serán inhibidores, sin embargo, se espera que su energía sea superior al Anastrazol, para competir con este, pero no superior al exemestano, para evitar los efectos adversos reportados para este último. Por ello, los mejores candidatos son los compuestos

que se encuentran entre el Exemestano y Anastrazol, puesto que hay posibilidades de que no lleguen al grado de toxicidad del Exemestano.

Se observa que hay moléculas derivadas de la metilfenilhidrazona que superan los niveles de energía de los ligandos de referencia, por ejemplo, entre el Exemestano y Anastrazol, se ubican 5 compuestos que su energía oscila entre -8.937 kcal/mol del compuesto con clave FOSLAC y -7.571 kcal/mol del compuesto POGPAE. El resto de los compuestos no superan estos valores, por lo que son descartados.

De forma estructural, se realiza una comparación entre algunos de los compuestos anteriormente mencionados, que presentan una buena energía con respecto a los de baja energía, para tratar de comprender los valores obtenidos.

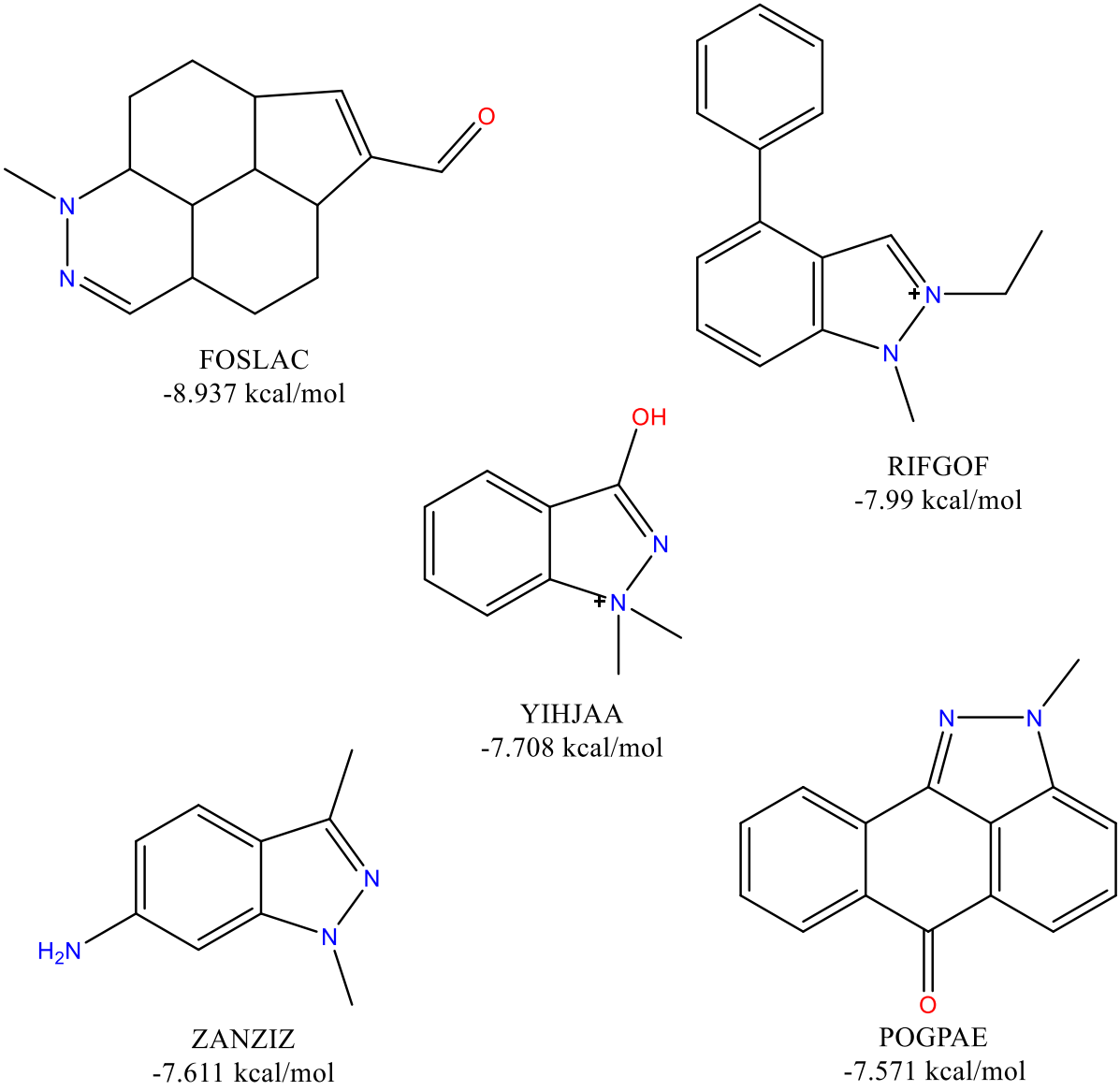


Figura 14. Estructuras químicas de la metilfenilhidrazona con mejor energía de acoplamiento para CYP19A1.

Estos compuestos (figura 14) derivados de la metilfenilhidrazona no presentan un grupo funcional en común, esto quiere decir que la energía depende de los sustituyentes, que comprende a cada molécula. Ocurre lo mismo con las moléculas de baja energía (figura 15).

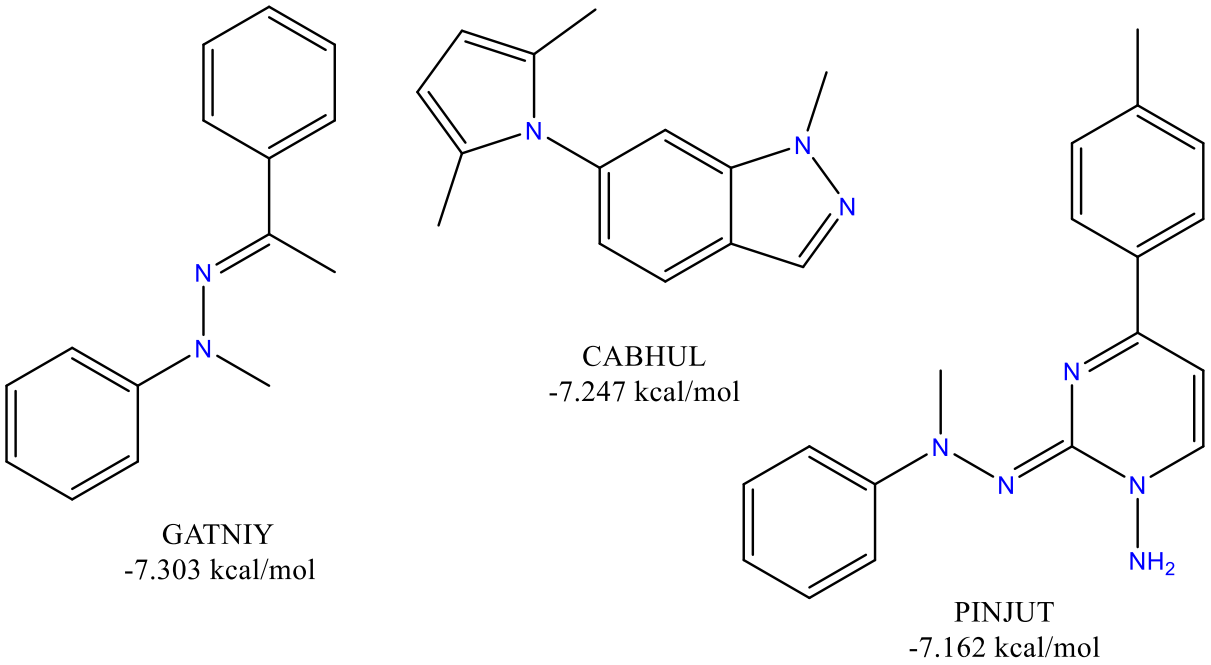
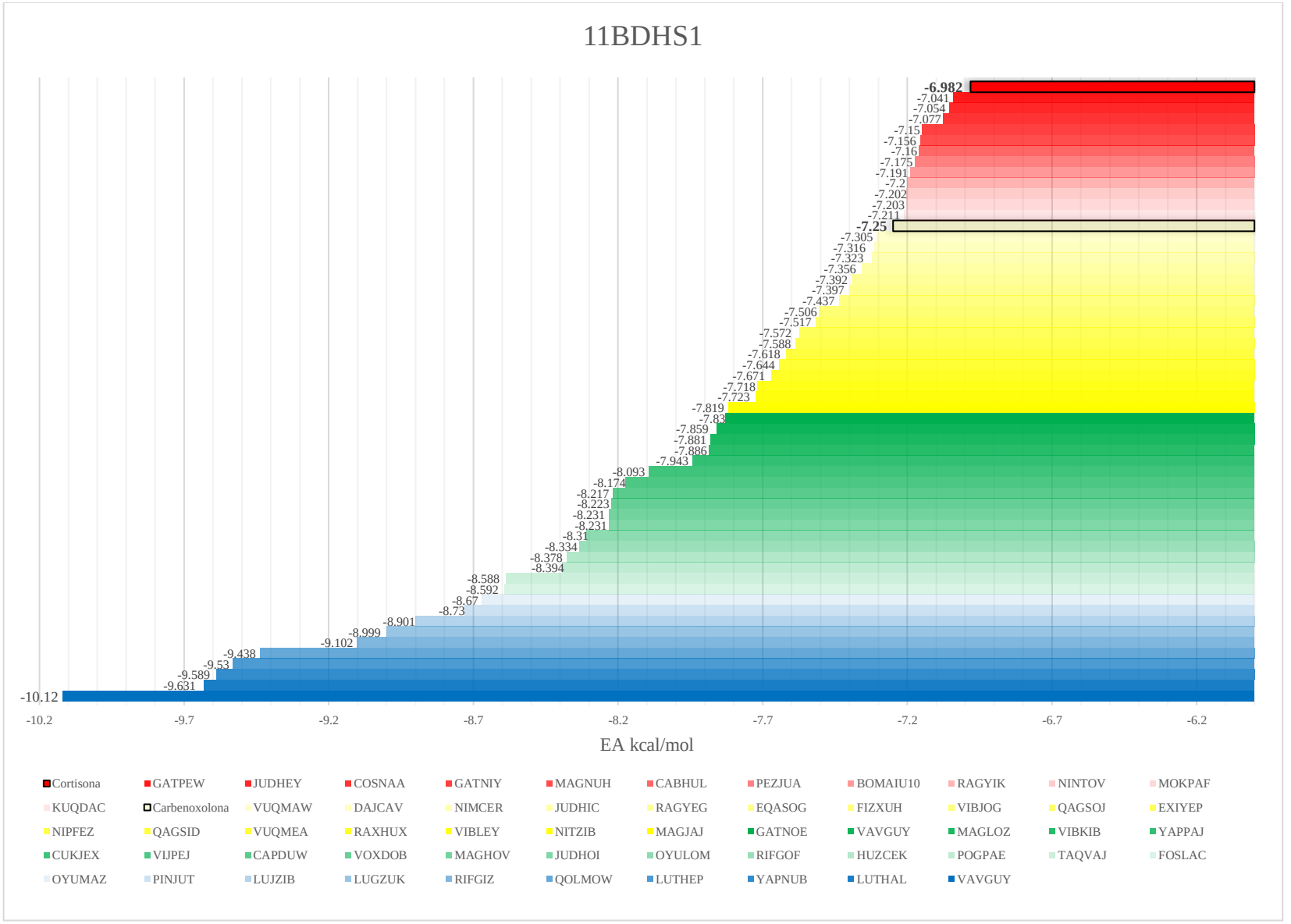


Figura 15. Estructuras químicas de los derivados de metilfenilhidrazona con baja energía de acoplamiento de CYP19A1.

En el caso de la enzima 11βHSDS1 se obtuvieron los resultados mostrados en la gráfica 3.



Grafica 3. Análisis a nivel energético de la diana 11βDHS1 con las moléculas seleccionadas.

La Carbenoxolona es un inhibidor de referencia para esta enzima, mientras que la cortisona es un sustrato endógeno de esta, es evidente que las moléculas propuestas interaccionan mejor con la 11βDHS1, por lo que se observan más interacciones. Es poca la evidencia que hay acerca de la Carbenoxolona como terapia contra el cáncer, sin embargo, está siendo estudiada para ser propuesta, sin embargo, para los fines terapéuticos que se usa, ha demostrado ser tóxico, este inhibidor presenta una energía de -7.25 kcal/mol. En el caso de la cortisona tiene una energía de -6.982 kcal/mol, ambas en comparación con lo que se observa en el gráfico 3, son niveles bajos; la cortisona si se encuentra indicado para tratamiento del cáncer, pero, su uso prolongado ha demostrado desarrollar efectos adversos. Por estas razones las 12 moléculas que se encuentran entre la Carbenoxolona y Cortisona, no se pueden considerar como candidatos ya que con energía similares pueden presentar los mismos efectos indeseados que se busca evitar.

La molécula con la clave VAVGUY es la que mejor energía tiene con -10.12 kcal/mol, pero no puede ser tomada como posible candidato debido a que no actúa en el mismo sitio de unión que los inhibidores de referencia, tal como se podrá observar en el punto 8.4 Análisis espacial del sitio de unión. Por lo que, a nivel energético, se puede descartar esta molécula, aún se tienen 43 moléculas que tienen mejor energía que los inhibidores.

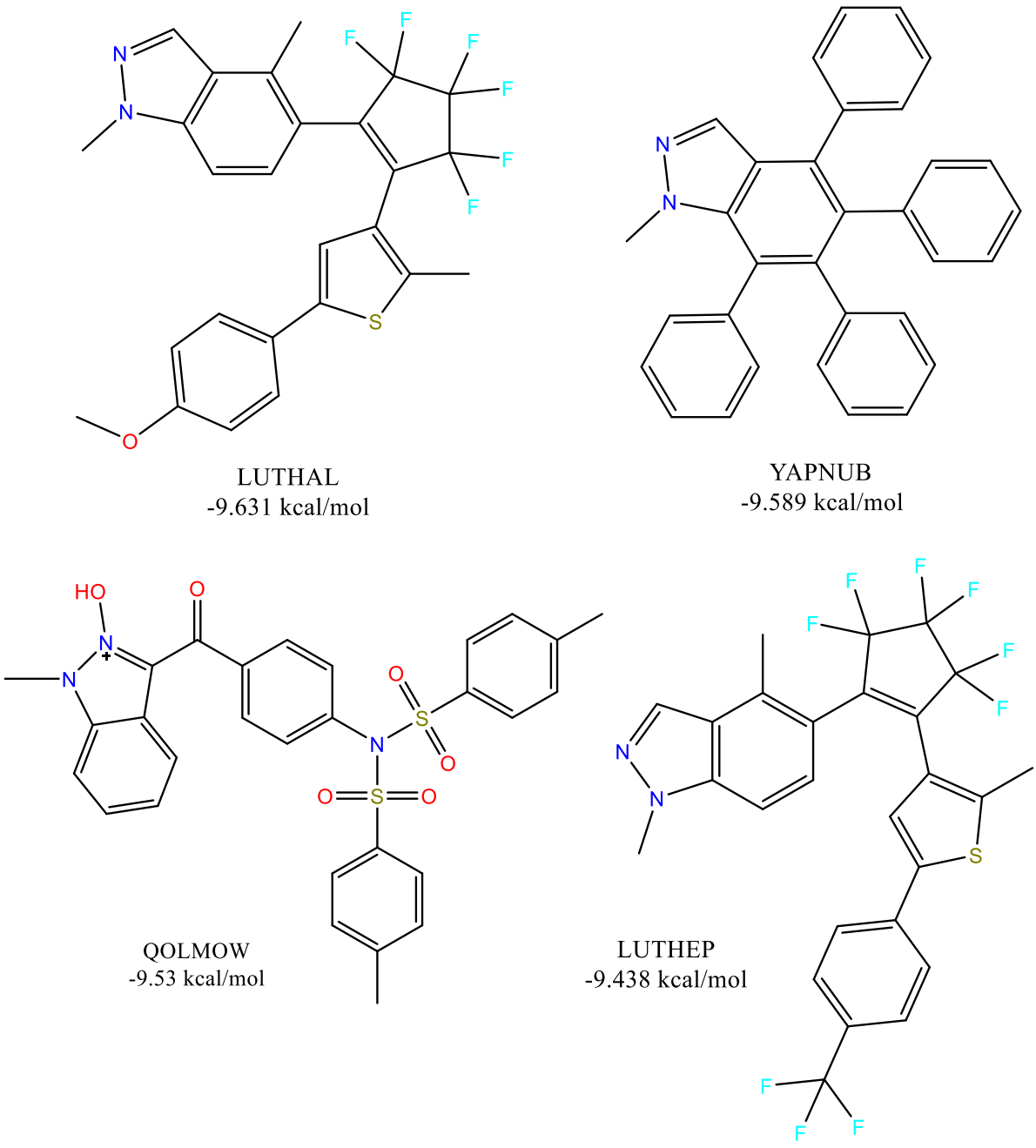


Figura 16. Estructuras químicas de las moléculas derivados de metilfenilhidrazona con mejor energía de acoplamiento para la diana 11βDHS1.

En las moléculas con clave LUTHAL con una energía de -9.631 kcal/mol y LUTHEP -9.589 kcal/mol se observan como sustituyentes en la metilfenilhidrazona a diferentes grupos como hexaflurociclopentano, tiofeno, entre otros; en el caso de molécula YAPNUB con energía -9.53 kcal/mol presenta 4 anillos aromáticos unido a la metilfenilhidrazona y la molécula QOLMOW

con una energía de -9.438 kcal/mol, que sus sustituyentes incluyen a grupos metilbencenosulfona unidos a nitrógenos. Los sustituyentes que presentan estas moléculas son voluminosos, lo cual podría explicar los valores altos de energía.

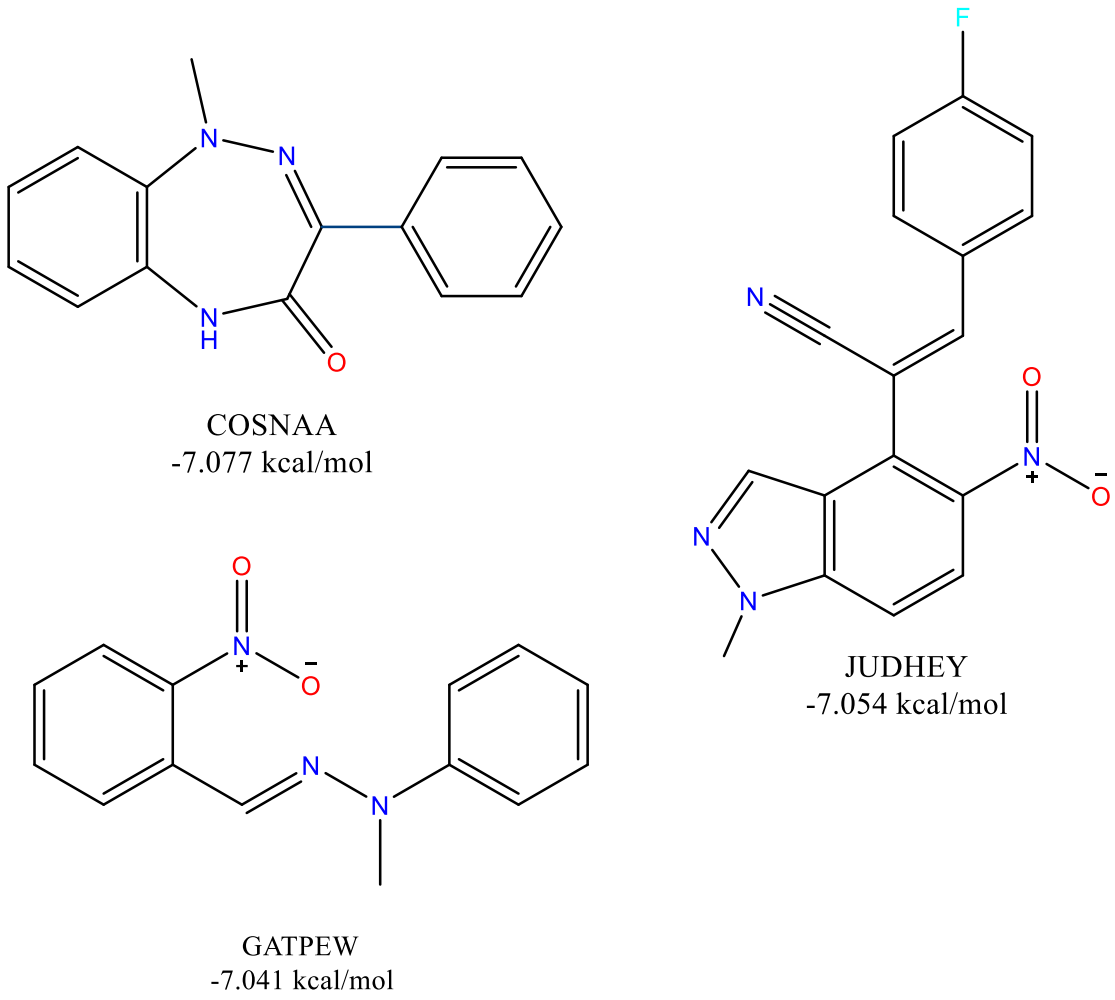


Figura 17. Estructuras químicas de los derivados de metilfenilhidrazona, con menor energía de acoplamiento de la enzima 11βDSHS1.

En caso contrario, las moléculas que presentan baja energía, como se observa en la figura 17 presentan menor cantidad de sustituyentes y la energía que presentan es menor a la del inhibidor Anastrazol, por lo que energéticamente no pueden ser consideradas.

8.3 11βDSHS1 vs CYP19A1

La diferencia de energías entre ambas dianas es muy significativa, debido a que la unión que tienen las moléculas de metilfenilhidrazonas, con cada una de las dianas es particular, por esta razón se observa un sitio de unión diferente y por ello, cada enzima se compara con sus respectivos inhibidores y sustratos.

De acuerdo con la figura 18, se observa un diagrama de Venn que muestra la preferencia energética de ambas dianas, lo que permitió hacer una clasificación utilizando la energía presentada por cada una de las estructuras. Se observa que las estructuras tuvieron un mejor acoplamiento con la enzima 11βDSHS1, hay un mayor número de moléculas que presentan mayor energía, en comparación con la CYP19A1 que son menos las moléculas con la que interactúa, sin embargo, cabe destacar, que ambas dianas coincidieron en interacción con 3 moléculas en particular (figura 19), que a nivel energético pueden inhibir dos enzimas, sin embargo, para una mejor visualización se realizó un análisis también de la estructura, como se muestra en el esquema 2, se seleccionaron las moléculas que tienen en común y las de mejor energía de cada uno respectivamente.

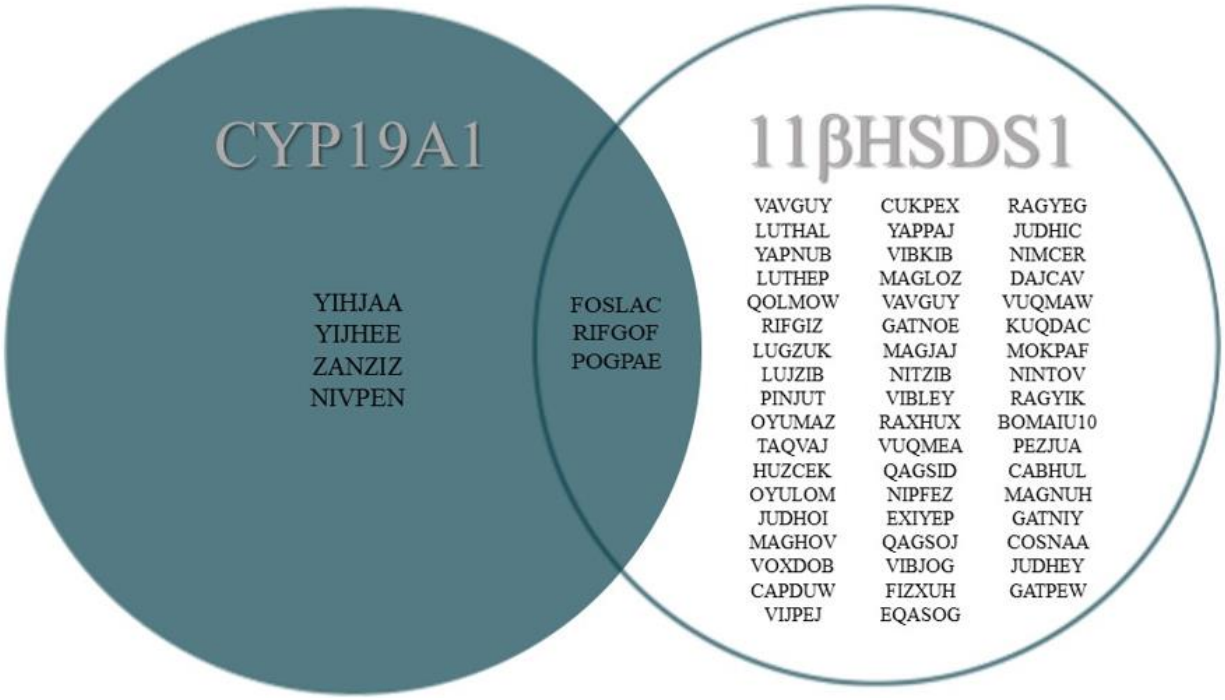


Figura 18. Diagrama de Venn de preferencia energética de ambas dianas.

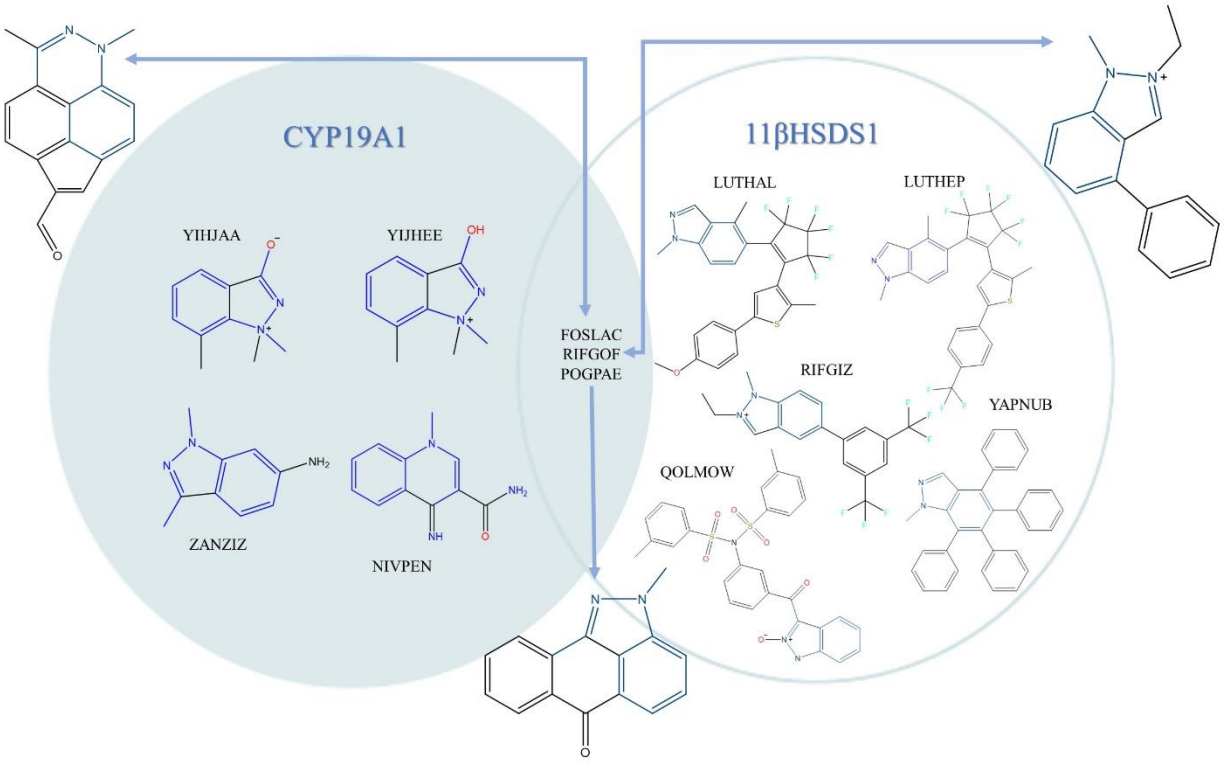


Figura 19. Diagrama de Venn de preferencia energética de ambas dianas y estructuras.

8.4 Análisis espacial del sitio de unión

Los resultados del docking molecular permitieron observar la estructura tridimensional y el sitio de unión de las moléculas propuestas en los ligandos elegidos. Cada ligando se evaluó con sus inhibidores para poder tener puntos de comparación. Así mismo se puede evaluar la ubicación espacial de las tres moléculas derivadas de la metilfenilhidrazona seleccionadas.

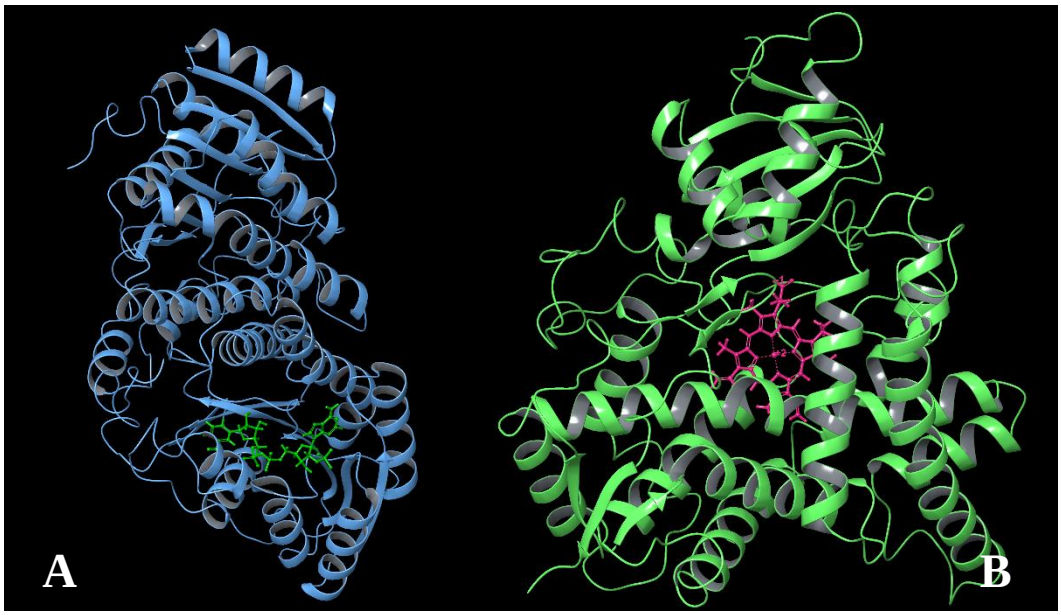


Figura 20. **A**. Estructura tridimensional de la enzima 11βHSDS1 con su cofactor NAP (verde) **B**. Estructura tridimensional de CYP19A1 con su cofactor HEMO (rosa).

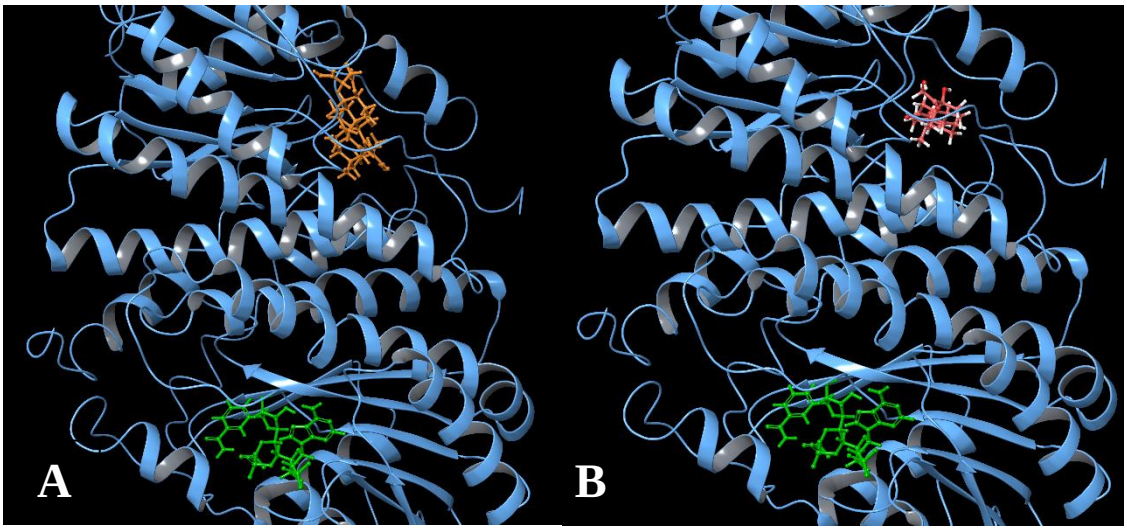


Figura 21. **A**. Sitio de unión del inhibidor Carbenoxolona (naranja); **B**. Sitio de unión del inhibidor Cortisol (coral) con respecto a la enzima 11βHSDS1.

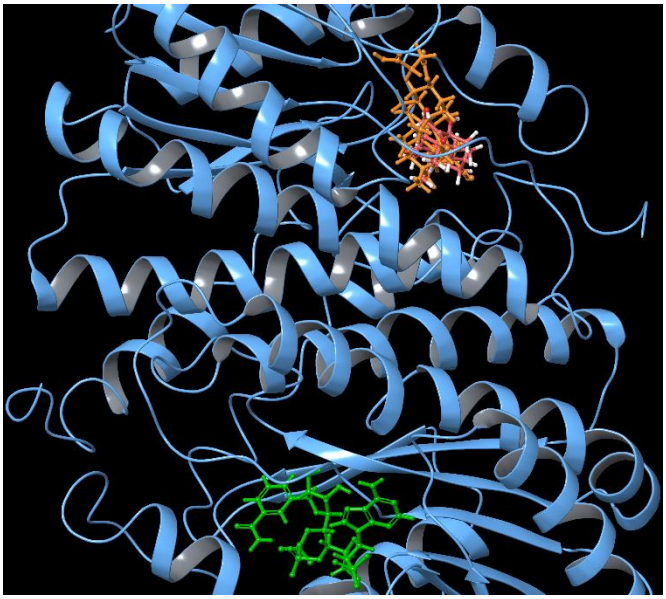


Figura 22. Sitio de unión de ambos inhibidores de la 11βHSDS1, Carbenoxolona (naranja) y Cortisol (coral).

En la figura 22, se observa que ambos inhibidores de la enzima 11βHSDS1, comparten la ubicación del sitio de unión.

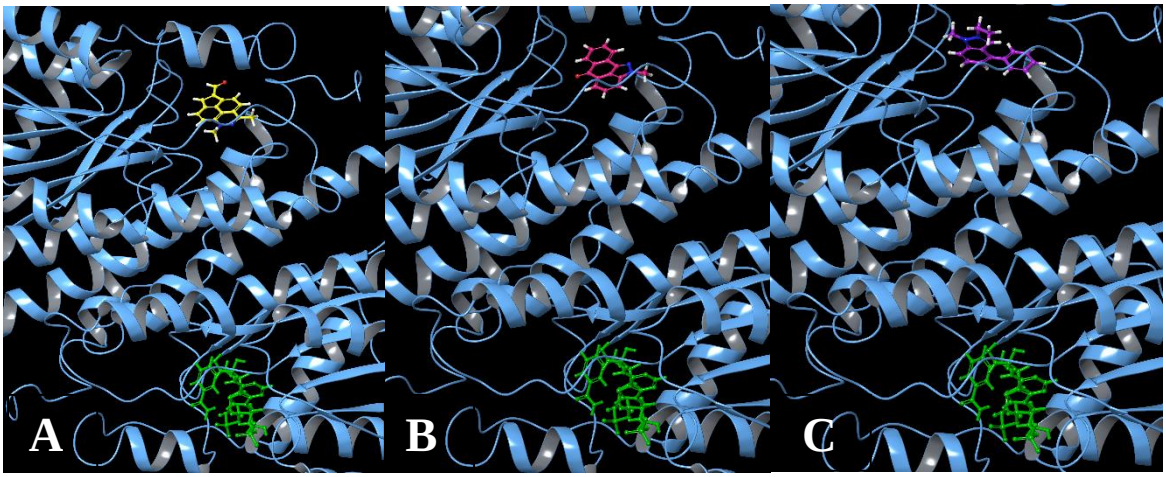


Figura 23. Sitio de unión de las moléculas en la enzima 11βHSDS1; A) FOSLAC (amarillo); B) POGPAE (rosa); C) RIFGOF (morado).

En la figura 23, se observa que las moléculas se encuentran interactuando en el mismo sitio espacial que los inhibidores (figura 22), esto quiere que decir que pueden activar a la enzima 11βHSDS1.

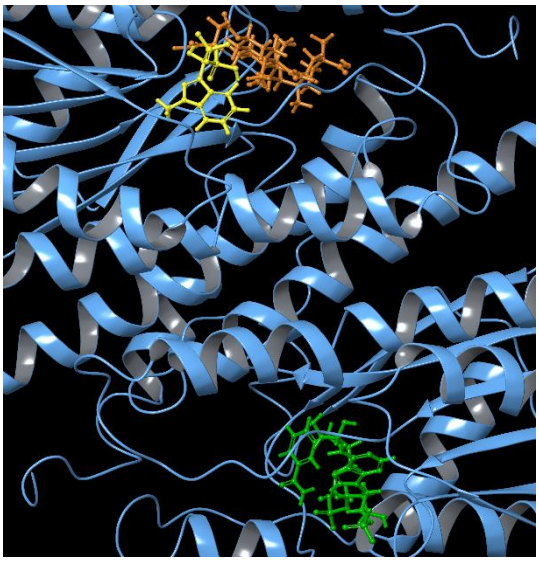


Figura 24. Sitio de unión del inhibidor Carbenoxolona (naranja) y la estructura VAVGUY (amarillo) en la enzima 11βHSDS1.

En un caso contrario, en la figura 24, se observa la posición espacial de la molécula VAVGUY que tuvo mejor energía de acoplamiento con -10.12 kcal/mol, sin embargo, no comparte la misma posición espacial, por lo tanto, tiene otro tipo de interacción con la enzima 11βHSDS1 desconocida, por lo que se descarta.

Para el caso de CYP19A1, se realiza lo mismo, una evaluación de los sitios de unión de sus inhibidores y una comparación con las moléculas seleccionadas.

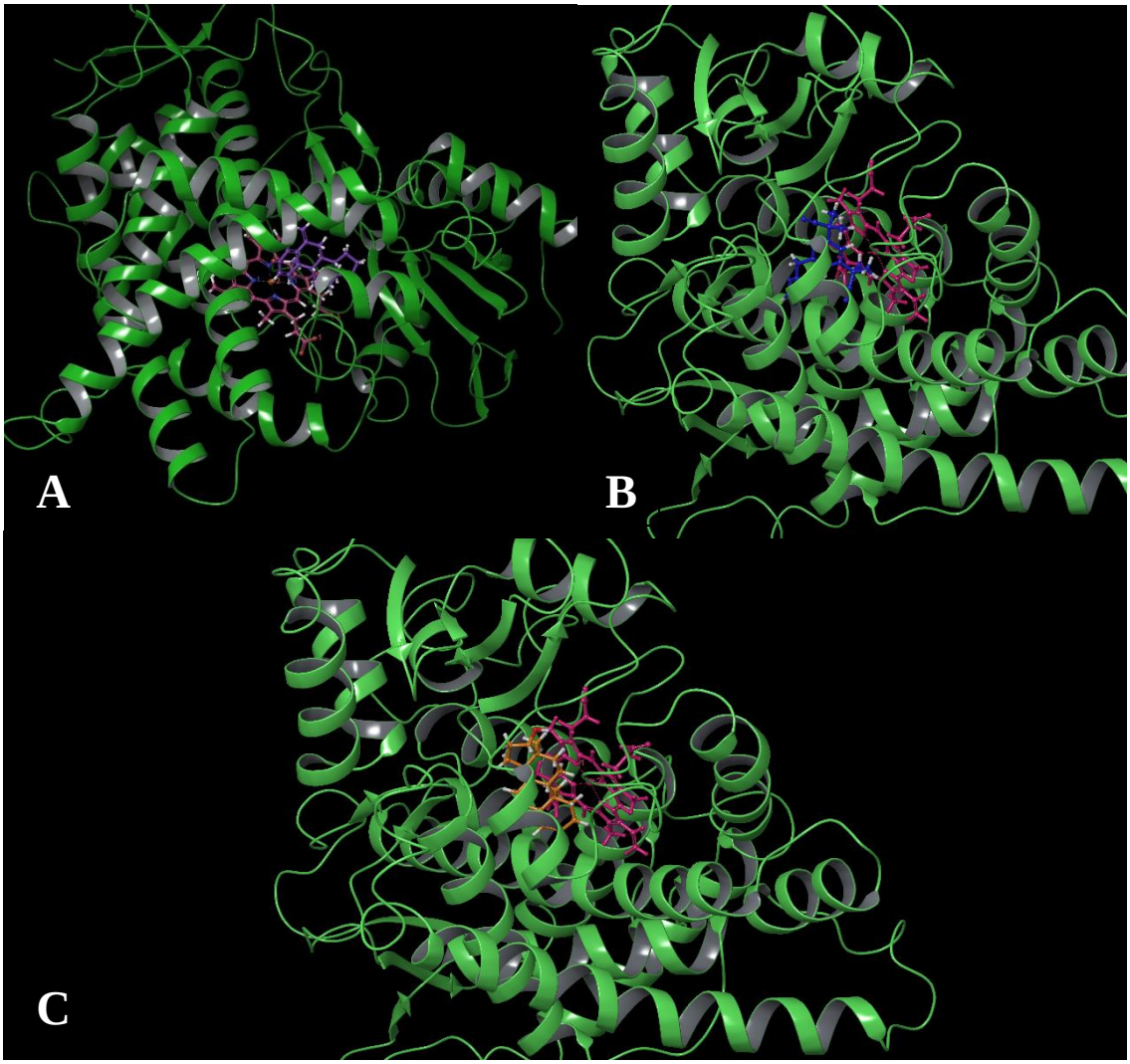


Figura 25. **A**. Sitio de unión del inhibidor Exemestano (morado). **B**. Sitio de unión del inhibidor Anastrazol (azul). **C**. Sitio de unión del inhibidor Testosterona (naranja).

El Exemestano, Anastrazol y Testosterona comparten la posición de sitio de unión, asi como se observa en la figura 25.

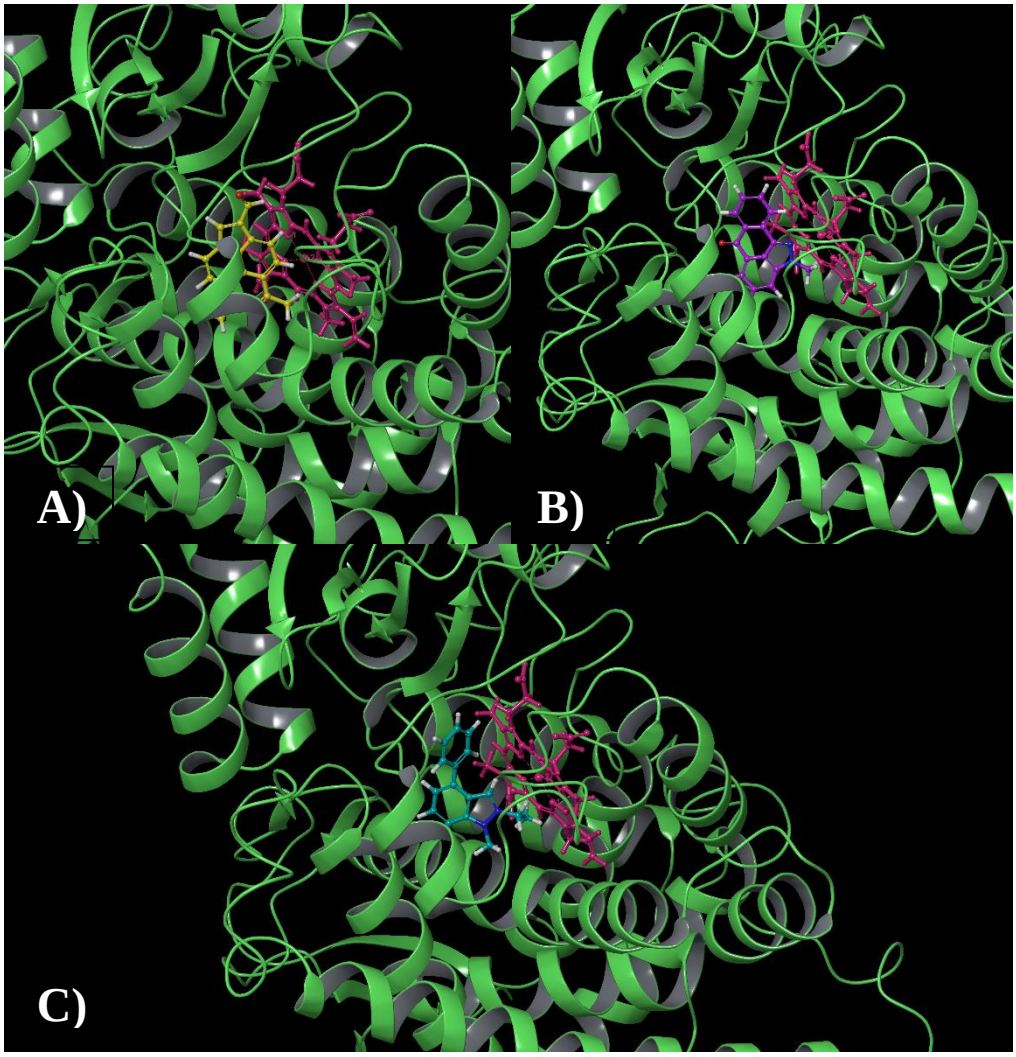


Figura 26. Sitio de unión de **A)** FOSLAC (amarillo); **B)** POGPAE (morado) y **C)** RIFGOF (azul) con respecto a la enzima CYP19A1.

En la figura 26, se puede observar que las moléculas seleccionadas, comparten el sitio espacial de unión, que los inhibidores y el sustrato endógeno.

Este análisis ha proporcionado información importante, ya que se ha mencionado que las moléculas seleccionadas derivados de la metilfenilhidrazona, comparten la ubicación del sitio de unión de los inhibidores de referencia, sin embargo, esto no quiere decir que sea la misma

posición y que se comporten de la misma manera, esto depende de las interacciones y residuos de aminoácidos que tiene cada uno, como veremos en el siguiente apartado.

8.5 Análisis de interacción de los ligandos.

La interacción del ligando se refiere a la interacción estructural de las moléculas con la cadena de aminoácidos que conforman a la enzima, se presentan distintas interacciones intermoleculares, las más importantes para este estudio son las fuerzas de Van der Waals/alifáticas, puentes de hidrógeno y pi-pi stacking. Este análisis al igual que los demás, se realizó tomando como referencia los inhibidores de cada una de las dianas.

Tabla 2. Interacciones moleculares de los inhibidores de la 11βDSHS1.

11βDSHS1			
Molécula	Fuerza de Van der Waals	Puentes de hidrógeno	Pi-Pi stacking
Carbenoxolona (inhibidor)	ILE 121 LEU 126 LEU 171 ALA 172 TYR 177 VAL 180 TYR 183 LEU 215 LEU 217 ILE 218 ALA 223	GLY 41 THR 220	
Cortisona (sustrato endógeno)	ILE 121 LEU 126 LEU 171 ALA 172 LEU 215 LEU 217 ILE 218 VAL 231 MET 233 TYR 284	SER 170	

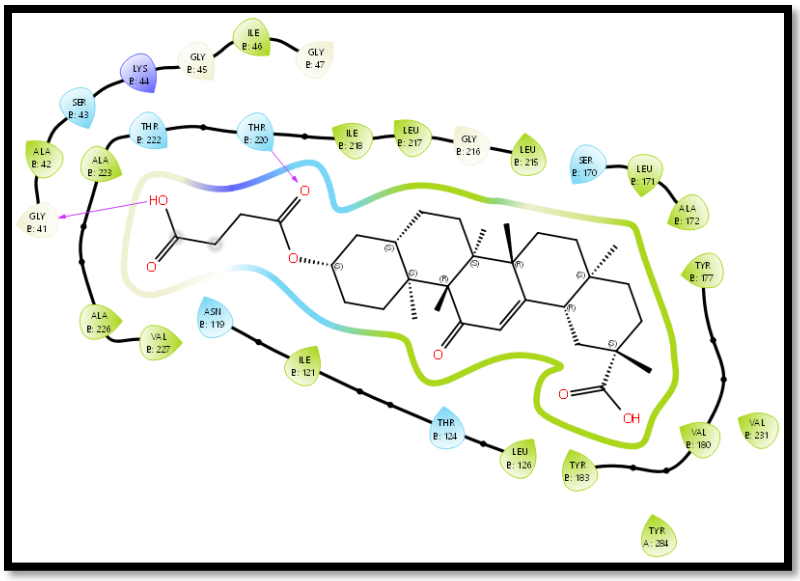


Figura 27. Esquema 2D de la Carbenoxolona y sus residuos de 11βDSHS1.

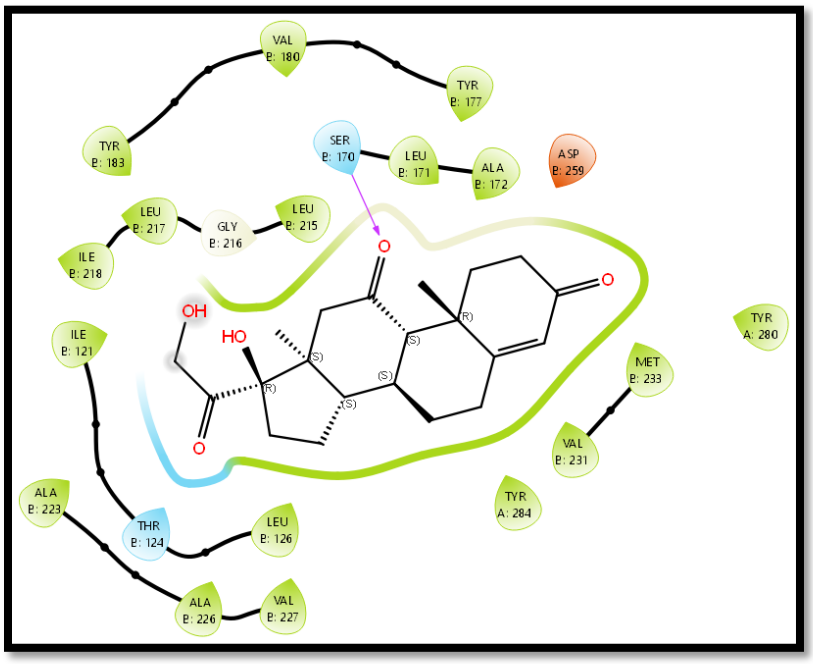
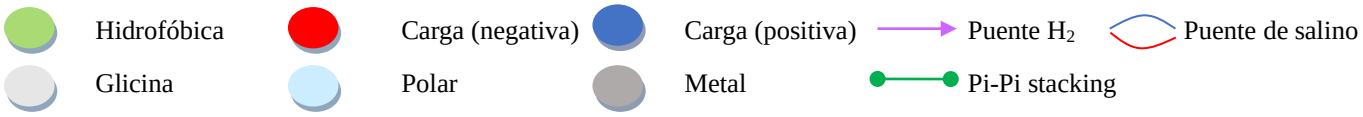


Figura 28. Estructura 2D de la Cortisona con sus residuos de 11βDSHS1.



Las figuras 27 y 28 representan el esquema 2D del inhibidor de 11βDSHS1, la Carbenoxolona y el sustrato endógeno Cortisona y los residuos de aminoácidos con los que interaccionan. Las

interacciones hidrofóbicas se interpretan como Van der Waals, la flecha morada indica interacción por puente de hidrógeno y en algunas estructuras más adelante, podremos observar líneas de color verde, estas indican interacción Pi-Pi stacking. Los ligandos de referencia de la enzima 11β tienen interacción de tipo Van der Waals donde participan 11 aminoácidos para la Carbenoxolona y 10 para la cortisona. Además, la Carbenoxolona comparte puentes de hidrógeno con GLY 41 y THR 220, la cortisona únicamente cuenta con uno, con SER170.

Tabla 3. Interacciones intermoleculares de los inhibidores de CYP19A1

CYP19A1			
Molécula	Fuerza de Van der Waals	Puentes de hidrogeno	Pi-Pi stacking
Exemestano (inhibidor)	ILE 47 PRO 48 PRO 50		
Anastrazol (inhibidor)	ILE 133 PHE 134 ILE 305 ALA 306 VAL 313 VAL 369 VAL 370 LEU 372 VAL 373 MET 374		
Testosterona (sustrato endógeno)	ILE 133 PHE 134 ILE 305 ALA 306 VAL 370 LEU 372 VAL 373 LEU 477	MET 374	

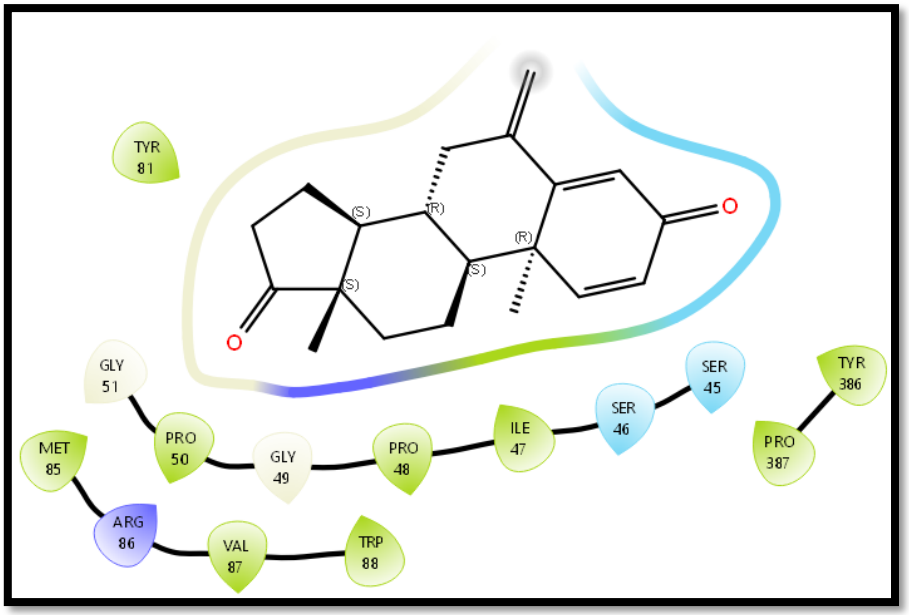


Figura 29. Estructura 2D de Exemestano inhibidor de CYP19A1 y sus residuos.

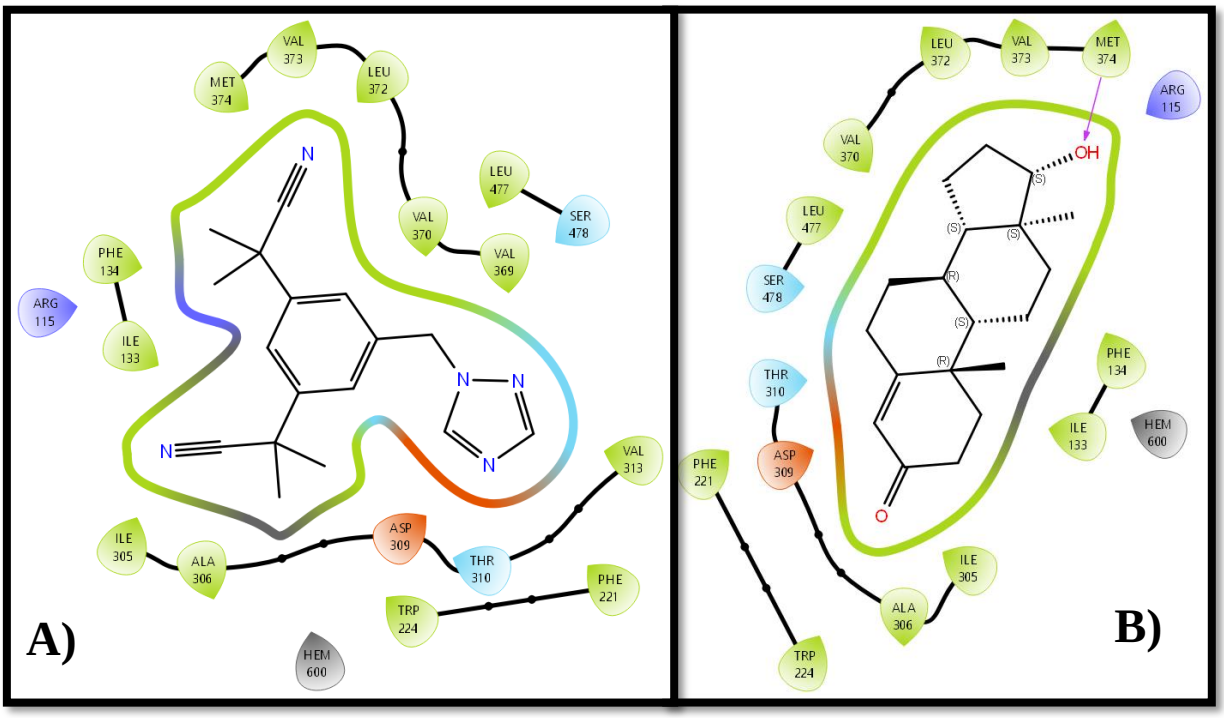


Figura 30. Estructuras 2D de Anastrazol (A) y Testosterona (B) y sus residuos, inhibidores de CYP19A1.

En el caso del Exemestano (figura 29), las interacciones que tiene son del tipo hidrofóbicas, son fuerzas de Van der Waals con los residuos ILE47, PRO48 y PRO50, el resto con glicinas e interacciones polares. Del Anastrazol (figura 30A), destaca su interacción con 10 aminoácidos con los que forma fuerzas Van der Waals, hay poca participación de residuos con interacción polar y compuestos de carga negativa. La testosterona, el sustrato endógeno (figura 30B) forma interacción de Van der Waals con 8 aminoácidos, también forma un puente de hidrógeno con MET 374.

Tabla 4. Interacciones intermoleculares de las 3 moléculas seleccionadas de cada diana.

Molécula	**11βDSHS1**			**CYP19A1**		
	Fuerzas de Van der Waals	Puentes de hidrogeno	Pi-Pi stacking	Fuerzas de Van der Waals	Puentes de hidrogeno	Pi-Pi stacking
FOSLAC	LEU 171 ALA 172 MET 179 PRO 178 TYR 183 VAL 180 LEU 215 LEU 217 TYR 280 TYR 284			ILE 133 PHE 134 ILE 305 ALA 306 VAL 370 LEU 372 VAL 373 LEU 477	MET 374	
POGPAE	LEU 171 ALA 172 TYR 177 PRO 178 MET 179 VAL 180 TYR 183 LEU 215 LEU 217 TYR 284		TYR 280	ILE 133 ILE 305 ALA 306 VAL 370 LEU 372 VAL 373 MET 374		

RIFGOF	LEU 171 ALA 172 PRO 178 MET 179 VAL 180 LEU 215 LEU 217 ILE 218 ALA 223 ALA 226 VAL 227		TYR 177	ILE 133 PHE 134 ILE 305 ALA 306 VAL 370 LEU 372 VAL 373 MET 374		HEM 600

Son tres las moléculas que tienen en común ambas dianas como la 11βDSHS1 y CYP19A1, como se puede observar no tienen las mismas interacciones, esto puede deberse a que también los valores de energía que tiene cada uno son distintos y varían de acuerdo con la diana. Tampoco son iguales a los inhibidores, a pesar de que comparten el sitio de unión este no es el mismo, este varía de acuerdo con la cadena aminoacídica y las interacciones que cada uno presente, pero presentan mayor afinidad a los inhibidores que entre sí.

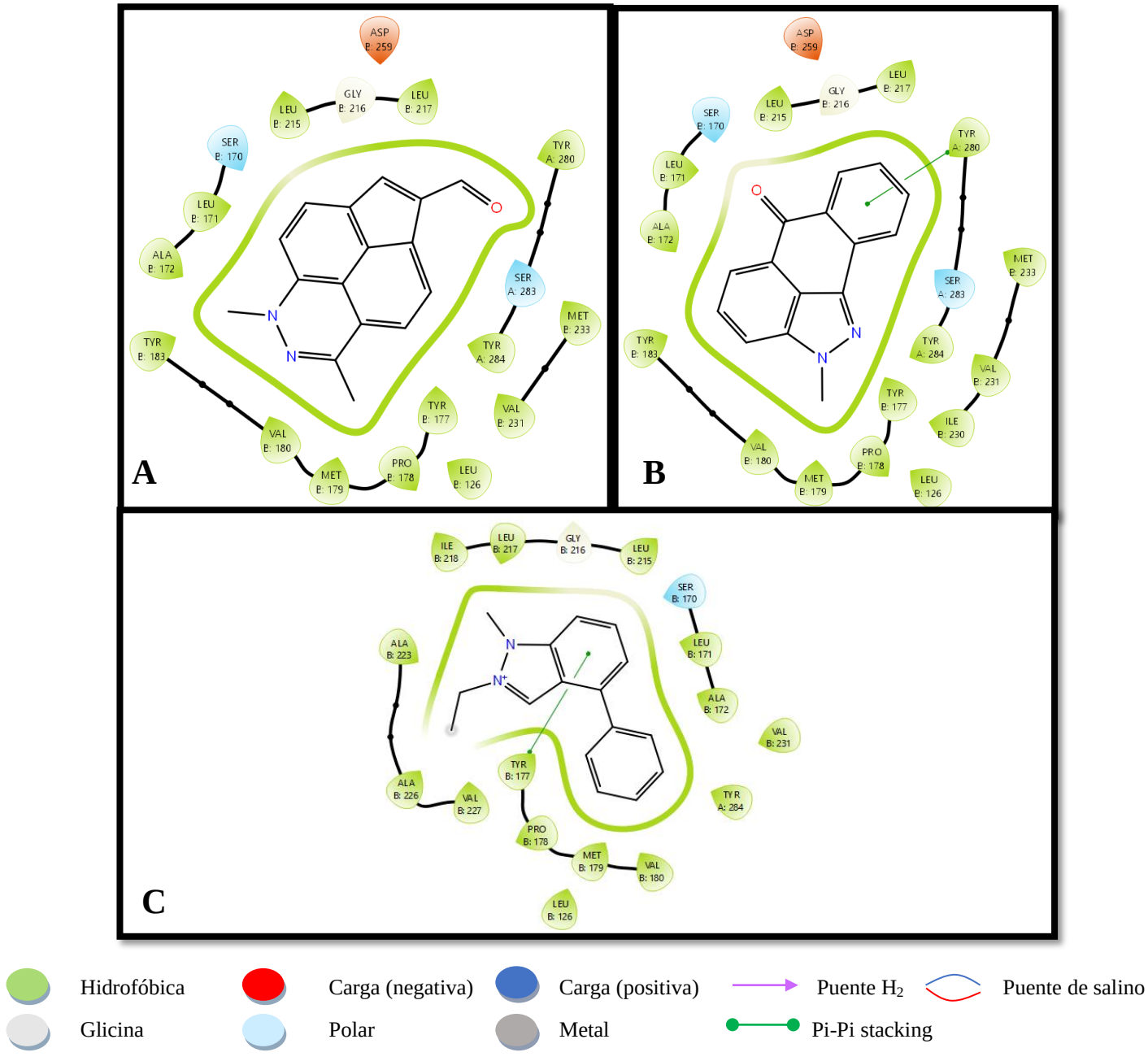


Figura 31. Esquemas 2D con respecto a la 11βDSHS1 **A**. FOSLAC; **B**. POGPAE; **C**. RIFGOF y sus residuos.

A diferencia de los inhibidores, las moléculas POGPAE y RIFGOF presentan un puente Pi-Pi stacking, POGPAE (figura 31B) lo forma con TYR280 y RIFGOF (figura 31C) con TYR177. Se

tiene conocimiento de que la Tirosina (TYR) tiene un anillo aromático en su estructura y los puentes Pi-Pi stacking se dan entre anillos aromáticos, tal como se observa.

Al realizar una comparación entre el inhibidor Carbenoxolona y las moléculas seleccionadas, comparten similitud en la presencia de aminoácidos y el tipo de interacción que crea con ellos. En el caso de la molécula FOSLAC (figura 31A) presenta similitud en interacciones de Van der Waals con LEU171, ALA172, VAL180, TYR183, LEU215 y LEU217 y no destaca alguna otra. También con POGPAE (figura 31B) con los residuos LEU171, ALA172, TYR177, VAL180, TYR183, LEU215, LEU217 interacciones de Van der Waals. RIFGOF (figura 31C) comparte interacciones Van der Waals en LEU171, ALA172, VAL180, LEU215, LEU217 y ILE218.

Respecto al sustrato endógeno Cortisona este presenta interacción por puente de hidrógeno con SER170, las moléculas presentan este residuo, sin embargo, la interacción que hay es de tipo polar, pero comparten interacciones de Van der Waals con los siguientes residuos de aminoácidos; FOSLAC comparte esta interacción con LEU171, ALA172, LEU215, LEU217 y TYR284. Con POGPAE coinciden con LEU171, ALA172, LEU215, LEU217 y TYR284. Por su parte RIFGOF también con LEU171, ALA172, LEU215, LEU217 y ILE218.

En las siguientes imágenes se muestran la interacción moléculas seleccionadas con respecto a la diana CYP19A1.

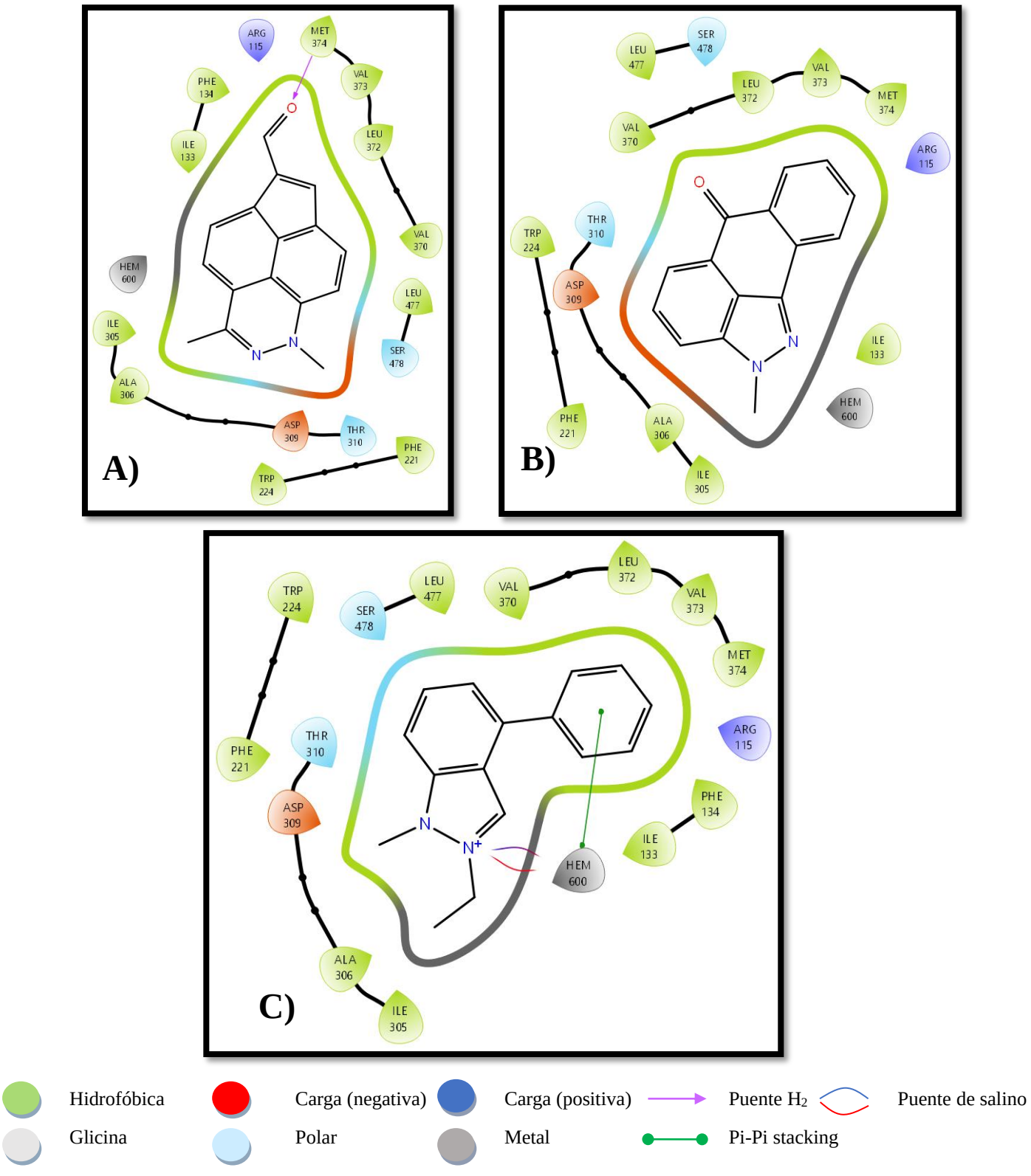


Figura 32. Estructura 2D de las moléculas FOSLAC (A) y POGPAE (B) con respecto a CYP19A1 y sus interacciones intermoleculares.

El Exemestano presenta interacciones poco energéticas como las de Van der Waals, sin embargo, con ninguna de las moléculas seleccionadas tiene similitud o interacción. En cambio, con el Anastrazol tienen similitud al presentar algunos residuos de aminoácidos y presentar la misma interacción siendo la de Van der Waals, la que más predomina. Con FOSLAC (figura 32A) interacciona con ILE133, PHE134, ILE305, ALA306, VAL370, LEU372, VAL373 y crea un puente de hidrógeno con MET374, que el inhibidor Anastrazol lo presenta, pero con una interacción débil. POGPAE (figura 32B) presenta con ILE133, ILE305, ALA306, VAL370, LEU372, VAL373, MET374. La molécula RIFGOF (figura 32C) interactúa con estas interacciones débiles con ILE133, PHE134, ILE305, ALA306, VAL370, LEU372, VAL373 y MET374, además, crea una interacción de tipo Pi-Pi stacking con el grupo HEM600 que participa como cofactor con la diana.

En el caso del sustrato endógeno Testosterona, FOSLAC tiene estas interacciones de Van der Waals con ILE133, PHE134, ILE305, ALA306, VAL370, LEU372, VAL373 y con MET374 forma un puente de hidrógeno al igual que el inhibidor. POGPAE presenta interacciones con ILE133, ILE305, ALA306, VAL370, LEU372, VAL373 y MET374. Por último, RIFGOF interacciona con ILE133, PHE134, ILE305, ALA306, VAL370, LEU372, VAL373.

IX. DISCUSIÓN

Para realizar el análisis del estudio, se seleccionaron 3 moléculas, ya que fueron las que interaccionaron con ambas dianas, sin embargo, en el desglose de los resultados, se observó que existen diferencias a nivel energético, estructural y en el plano.

- Inhibición de CYP19A1

El Exemestano pertenece a la familia de los inhibidores esteroideos de la aromatasa (IAE), participa en tratamiento para algunas enfermedades, sin embargo, presenta algunos efectos secundarios y su uso prolongado ha revelado ser tóxico (13), principalmente presenta efectos secundarios androgénicos como la infertilidad y la osteoporosis (103). Además, este fármaco es un inhibidor irreversible, esto quiere decir que actúa como falso sustrato, se cataliza por un intermediario inactivo que se une al sitio activo de manera irreversible (121). A nivel espacial, el Exemestano si acoplamiento es el mismo sitio de unión al que presentaron las moléculas como FOSLAC, POGPAE y RIFGOF y el resto de los inhibidores; en cuanto a nivel energético el Exemestano presentó una energía de -9.746 kcal/mol, con respecto a la enzima fue el valor más alto, lo cual justifica su aplicación terapéutica para el tratamiento del cáncer.

Por lo cual, se esperaba que los compuestos se encontraran alejados de este valor, afortunadamente fue así, las moléculas FOSLAC (-8.937 kcal/mol), POGPAE (-7.571 kcal/mol) y RIFGOF (-7.571 kcal/mol), tuvieron una energía de acoplamiento menor que el inhibidor, posicionándolas como posibles candidatos. En el análisis de interacciones moleculares, el Exemestano presenta interacciones de Van der Waals con PRO50, PRO48 y

ILE47, con compuestos de interacción polar y ninguna de las moléculas seleccionadas de la metilfenilhidrazona, presenta estas interacciones.

El Anastrazol, pertenece a la familia de los inhibidores no esteroideos de la aromatasa (IANE), actúa de forma competitiva y no presenta efectos adversos mortales, pero también puede llegar a ser tóxico y presenta efectos secundarios. Este inhibidor tiene una energía de acoplamiento de -7.451 kcal/mol, y la Testosterona, que es el sustrato endógeno presenta una energía de -7.329 kcal/mol, ambos tienen un valor muy similar. Sin embargo, para el caso de FOSLAC, POGPAE y RIFGOF, estos compuestos superan en valor energético al Anastrazol, pero sin llegar a alcanzar el del Examestano. A nivel espacial, estos compuestos presentan la misma ubicación que el Anastrazol, este se une de forma competitiva, por medio de un enlace coordinado interacciona con el grupo hemo, presente en el sitio activo de la aromatasa (122). Al realizar la comparación de las interacciones con las moléculas, se puede decir que; el Anastrazol tiene en común algunos residuos, como se describió anteriormente, pero, las moléculas también presentan otro tipo de interacciones como FOSLAC, crea un puente de hidrógeno con MET374; en el caso de POGPAE interacciona con el grupo prostético Hemo de la enzima, también forma interacción Pi-Pi stacking con TYR280 y RIFGOF tiene una interacción Pi-Pi stacking con el grupo Hemo y a su vez, este grupo crea una puente salino con el Nitrógeno (+) del indazol.

Las tres moléculas seleccionadas presentan interacción con el grupo hemo de la enzima, esta interacción depende de la orientación que tiene cada una con el grupo prostético, esto es bueno ya que el inhibidor de referencia Anastrazol, tiene esta misma interacción.

- Inhibición de 11β-HSDS1

Los glucocorticoides son hormonas importantes que participan en diferentes procesos fisiológicos, sin embargo, el uso crónico de glucocorticoides puede provocar efectos secundarios como la osteoporosis, hiperglucemia, diabetes, obesidad, enfermedades cardiovasculares, depresión, por lo que su uso debe ser controlado y evitar su uso crónico (123)

El inhibidor Carbenoxolona es un fármaco que tiene una actividad no selectiva, por lo que la energía de acoplamiento que presenta es de -7.25 kcal/mol, mucho menor a la que presentan los compuestos propuestos. La ubicación espacial que tiene la Carbenoxolona depende como se ha mencionado en los residuos de aminoácidos y la interacción que presente con cada uno. Este presenta en su mayoría interacciones de Van der Waals, e interacción por puentes de hidrógeno con THR220 y GLY41.

De los compuestos derivados de la metilfenilhidrazona, ninguna presenta interacciones por puentes de hidrógeno, FOSLAC muestra regiones hidrofóbicas, por lo que su interacción es de tipo Van der Waals. Para el caso de POGPAE la mayoría de sus interacciones son con regiones hidrofóbicas, presenta interacción de tipo Pi-Pi stacking con TYR280 y en el caso de RIFGOF las interacciones son igual de Van der Waals, son las interacciones que predominan, además tiene una interacción Pi-Pi stacking con TYR177.

La inhibición de la enzima 11βHSDS1 ha tenido mucho interés en los últimos años, debido a su señalización en diferentes patologías derivadas de hormonas, por lo que algunos autores han explorado este campo, con otro tipo de compuestos pero resalta que la presencia de algunos residuos son comunes, y que han demostrado ser importantes para lograr la

inhibición de la enzima, estos residuos son de interacción no polar, que forman una región hidrofóbica que interacciona con la enzima, LEU171, ALA172, VAL180, TYR177, LEU217 (42) y positivamente estos mismos residuos se encuentran presentes en las moléculas propuestas. Además, se señala que la fuerza impulsora de la unión parece ser las interacciones hidrofóbicas del ligando con los grupos no polares, apoyadas por puentes de hidrógeno y concluye que los posibles inhibidores de la enzima deben de contener un grupo donador y un grupo aceptor de protones, con dos regiones hidrófobas y la presencia de un anillo aromático (42), en este caso las moléculas propuestas no cumplen con todos los criterios anteriores, sin embargo, se demuestra que se acoplan en el sitio. Estos hallazgos sin duda son esperanzadores para el futuro de las moléculas derivadas de la metilfenilhidrazona, ya que todo parece indicar que pueden ser candidatos a inhibidores competitivos.

X. CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos del docking molecular aplicado a 96 moléculas derivados de la metilfenilhidrazona frente a las dianas biológicas, las enzimas 11βHSDS1 y CYP19A, han sido de lo más satisfactorios, de acuerdo con los análisis realizados, se obtuvieron 3 moléculas que tienen participación con ambas enzimas, se obtuvo información importante sobre el sitio de acoplamiento de las moléculas seleccionadas y las interacciones que tiene cada una con los residuos.

Los diferentes análisis que se realizaron revelaron información importante, el estudio energético y espacial, permitieron la selección de las moléculas. El análisis de interacciones desde mi punto de vista fue el más importante, debido a que depende de los residuos de aminoácidos que tiene y la interacción que crea con el sitio activo de la enzima o con la propia enzima para determinar si es o no un candidato favorable. Las interacciones que se tomaron en cuenta fueron las de Van der Waals, estas a pesar de ser de las más débiles, en estos casos, permiten la orientación de las moléculas frente a la enzima, los puentes o enlaces de hidrógeno, son los más fuertes, las interacciones Pi-Pi stacking o apilamiento aromático, son aquellas que se dan entre anillos aromáticos y en una de las moléculas hubo una interacción por puente salino, la cual llama mucho la atención debido a que puede cambiar el estado de la enzima, del cual para comprender más su interacción harían falta más estudios.

En el caso de la enzima CYP19A1 es la que se encuentra mayormente relacionada con el cáncer hormona-dependiente, además de que los fármacos comerciales inhibidores de la aromatasa han demostrado tener efectos secundarios, toxicidad incluso hasta resistencia, la búsqueda de nuevos inhibidores está en auge. De acuerdo con la 11βHSDS1 su relación con la

progresión del cáncer es poca, hay más información con respecto a obesidad, diabetes, síndrome metabólico, entre otras, por lo que, de igual manera, las investigaciones para hallar nuevos inhibidores son importantes.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Popiołek Ł. Hydrazide–hydrazones as potential antimicrobial agents: overview of the literature since 2010. Med Chem Res. 2017;26(2):287–301.
2. McCalla DR, Reuvers A, Kaiser C. Mode of Action of Nitrofurazone. J Bacteriol. diciembre de 1970;104(3):1126–34.
3. Ali BH. Some pharmacological and toxicological properties of furazolidone. Vet Res Commun. El 1 de diciembre de 1983;6(1):1–11.
4. Munoz-Davila MJ. Role of Old Antibiotics in the Era of Antibiotic Resistance. Highlighted Nitrofurantoin for the Treatment of Lower Urinary Tract Infections. Antibiotics. marzo de 2014;3(1):39–48.
5. Saldívar-González F, Prieto-Martínez FD, Medina-Franco JL, Saldívar-González F, Prieto-Martínez FD, Medina-Franco JL. Descubrimiento y desarrollo de fármacos: un enfoque computacional. Educación química. 2017;28(1):51–8.
6. Vallejo FL, Franco JLM, Castillo R. Diseño de fármacos asistido por computadora. Educación Química. 2006;17(4):452–7.
7. Gfeller D, Michielin O, Zoete V. Shaping the interaction landscape of bioactive molecules. Bioinformatics. el 1 de diciembre de 2013;29(23):3073–9.
8. Kupczyk D, Studzińska R, Bilski R, Baumgart S, Kołodziejska R, Woźniak A. Synthesis of Novel 2-(Isopropylamino) thiazol-4(5H)-one Derivatives and Their Inhibitory Activity of 11β-HSD1 and 11β-HSD2 in Aspect of Carcinogenesis Prevention. Molecules. enero de 2020;25(18):4233.
9. Kharb R, Haider K, Neha K, Yar MS. Aromatase inhibitors: Role in postmenopausal breast cancer. Archiv der Pharmazie. agosto de 2020;353(8):2000081

10. Howell A, Cuzick J, Baum M, Buzdar A, Dowsett M, Forbes JF, et al. Results of the ATAC (Arimidex, Tamoxifen, Alone or in Combination) trial after completion of 5 years' adjuvant treatment for breast cancer. Lancet. 2005;365(9453):60–2.

11. Seruga B, Tannock IF. Up-Front Use of Aromatase Inhibitors As Adjuvant Therapy for Breast Cancer: The Emperor Has No Clothes. JCO. el 20 de febrero de 2009;27(6):840–2.

12. Zhang WF, Li T, Lin SX. Meta-Analysis of steroid-converting enzymes and related receptors in prostate cancer suggesting novel combined therapies. The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology. El 1 de Abril de 2020; 198:105559.

13. Dutta U, Pant K. Aromatase inhibitors: past, present and future in breast cancer therapy. Med Oncol. el 1 de junio de 2008;25(2):113–24.

14. Organización Mundial de la Salud [Internet]. 2022 [citado el 21 de febrero de 2024]. Cáncer. Disponible en: https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cancer

15. INEGI. [Internet] Estadísticas a propósito del Día Mundial contra El Cáncer… [citado el 21 de febrero de 2024] el 02 de febrero de 2023. Disponible en: https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/aproposito/2023/EAP_Cancer.pdf

16. Sabel MS. Oncología. En: Doherty GM, editor. Diagnóstico y tratamiento quirúrgicos, 15e [Internet]. New York, NY: McGraw Hill; 2021 [citado el 21 de febrero de 2024]. Disponible en: accessmedicina.bibliotecabuap.elogim.com/content.aspx?aid=1187370679

17. Cuéllar AYD, Sibaja CM, Aguirre AU. Endocrinología clínica de Dorantes y Martínez. Editorial El Manual Moderno; 2016. 1936 p.

18. Anderson AC, Acharya N. Steroid hormone regulation of immune responses in cancer. Immunometabolism (Cobham). el 31 de octubre de 2022;4(4): e00012.

19. Lorenzo-Velázquez P, Moreno A, Lizazoain I, Leza JC, Moro MA, Portolés A. Velázquez. Manual de Farmacología básica y clínica [Internet]. 18a ed. Buenos Aires: Medica Panamericana; [citado el 22 de noviembre de 2023]. Disponible en: https://medicapanamericana.bibliotecabuap.elogim.com/VisorEbookV2/Ebook/9788498356991?token=5c464780-6bb6-4762-aa62-37428c2e5ac9#{%22Pagina%22:%22494%22,%22Vista%22:%22Buscador%22,%22Busqueda%22:%22carbenoxolona%22}

20. Palmero Picazo J, Lassard Rosenthal J, Juárez Aguilar LA, Medina Núñez CA, Palmero Picazo J, Lassard Rosenthal J, et al. Cáncer de mama: una visión general. Acta médica Grupo Ángeles. septiembre de 2021;19(3):354–60.

21. Hernández Muñoz GA, T. Bernardello E, D. Barros ACS. Cáncer de Mama al Día [Internet]. 1a ed. Caracas: Medica Panamericana; 2016 [citado el 17 de octubre de 2023]. 579 p. Disponible en: https://medicapanamericana.bibliotecabuap.elogim.com/VisorEbookV2/Ebook/9789806908482?token=513f5681-099b-4e08-b81c-c35fe0717b97#{%22Pagina%22:%22IV%22,%22Vista%22:%22Indice%22,%22Busqueda%22:%22%22}

22. Hayes DF, Lippman ME. Cáncer mamario. En: Loscalzo J, Fauci A, Kasper D, Hauser S, Longo D, Jameson JL, editores. Harrison Principios de Medicina Interna, 21e [Internet]. New York, NY: McGraw-Hill Education; 2022 [citado el 23 de febrero de

2024]. Disponible en: accessmedicina.bibliotecabuap.elogim.com/content.aspx?aid=1192790369

23. López-Muñoz E, Salamanca-Gómez F. Cáncer de mama. Revista médica del instituto mexicano del seguro social. 2020;58(1):1–3.

24. Palmero Picazo J, Lassard Rosenthal J, Juárez Aguilar LA, Medina Núñez CA, Palmero Picazo J, Lassard Rosenthal J, et al. Cáncer de mama: una visión general. Acta médica Grupo Ángeles. septiembre de 2021;19(3):354–60.

25. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA: A Cancer Journal for Clinicians. 2018;68(6):394–424.

26. Kocarnik JM, Compton K, Dean FE, Fu W, Gaw BL, Harvey JD, et al. Cancer incidence, mortality, years of life lost, years lived with disability, and disability-adjusted life years for 29 cancer groups from 2010 to 2019: a systematic analysis for the global burden of disease study 2019. JAMA oncology. 2022;8(3):420–44.

27. Pow-Sang M, Destefano V, Astigueta JC, Castillo O, Gaona JL, Santaella F, et al. Cáncer de próstata en Latinoamérica. Actas Urológicas Españolas. el 1 de noviembre de 2009;33(10):1057–61.

28. Instituto Nacional de Salud Pública [Internet]. 2023 [citado el 11 de abril de 2024]. Cáncer de Próstata. Disponible en: https://www.insp.mx/avisos/dia-mundial-del-cancer-de-prostata-11-de-junio.

29. Rawla P. Epidemiology of Prostate Cancer. World J Oncol. abril de 2019;10(2):63–89.

30. Carroll PR, Grossfeld GD. Prostate cancer. BC Decker; 2002.

31. Schwartz GG, Hulka BS. Is vitamin D deficiency a risk factor for prostate cancer? (Hypothesis). Anticancer Res. 1990;10(5A):1307–11.

32. Kaaks R, Stattin P. Obesity, endogenous hormone metabolism, and prostate cancer risk: a conundrum of “highs” and “lows”. Cancer Prev Res (Phila). Marzo de 2010;3(3):259–62.

33. Schleutker J. Polymorphisms in androgen signaling pathway predisposing to prostate cancer. Molecular and cellular endocrinology. 2012;360(1–2):25–37.

34. Rajah TT, Pento JT. The mutagenic potential of antiestrogens at the HPRT locus in V79 cells. Res Commun Mol Pathol Pharmacol. julio de 1995;89(1):85–92.

35. Levin ER, Vitek WS, Hammes SR. Estrógenos, progestágenos y el aparato reproductor femenino. En: Brunton LL, Knollman BC, editores. Goodman & Gilman: Las bases farmacológicas de la terapéutica, 14e [Internet]. New York, NY: McGraw-Hill Education; 2022 [citado el 23 de febrero de 2024]. Disponible en: accessmedicina.bibliotecabuap.elogim.com/content.aspx?aid=1200351942

36. Chrousos GP. Adrenocorticosteroides y antagonistas de la corteza suprarrenal. En: Katzung BG, Vanderah TW, editores. Farmacología básica y clínica, 15e [Internet]. New York, NY: McGraw-Hill Education; 2021 [citado el 19 de marzo de 2024]. Disponible en: accessmedicina.bibliotecabuap.elogim.com/content.aspx?aid=1182181166

37. Kupczyk D, Studzińska R, Bilski R, Woźniak A. Application of ELISA Technique and Human Microsomes in the Search for 11β-Hydroxysteroid Dehydrogenase Inhibitors. Biomed Res Int. el 12 de mayo de 2019; 2019:5747436.

38. Choe SJ, Kim D, Kim EJ, Ahn JS, Choi EJ, Son ED, et al. Psychological Stress Deteriorates Skin Barrier Function by Activating 11β-Hydroxysteroid Dehydrogenase 1 and the HPA Axis. Sci Rep. el 20 de abril de 2018; 8:6334.

39. Dhabhar FS, McEwen BS. Enhancing versus suppressive effects of stress hormones on skin immune function. Proc Natl Acad Sci U S A. el 2 de febrero de 1999;96(3):1059–64.

40. Lorenzo-Herrero S, López-Soto A, Sordo-Bahamonde C, Gonzalez-Rodriguez AP, Vitale M, Gonzalez S. NK Cell-Based Immunotherapy in Cancer Metastasis. Cancers. enero de 2019;11(1):29.

41. Lin KT, Wang LH. New dimension of glucocorticoids in cancer treatment. Steroids. el 1 de julio de 2016; 111:84–8.

42. Baumgart S, Kupczyk D, Archała A, Koszła O, Sołek P, Płaziński W, et al. Synthesis of Novel 2-(Cyclopentylamino) thiazol-4(5H)-one Derivatives with Potential Anticancer, Antioxidant, and 11β-HSD Inhibitory Activities. International Journal of Molecular Sciences. enero de 2023;24(8):7252.

43. Kupczyk D, Bilski R, Kozakiewicz M, Studzińska R, Kędziora-Kornatowska K, Kosmalski T, et al. 11β-HSD As a new target in pharmacotherapy of metabolic diseases. International journal of molecular sciences. 2022;23(16):8984.

44. Ruiz-Gayo M, Fernandez-Alfonso M. Fundamentos de farmacología básica y clínica. 2a ed. Madrid: Medica Panamericana; 2013. 493 p.

45. Hanstein B, Djahansouzi S, Dall P, Beckmann MW, Bender HG. Insights into the molecular biology of the estrogen receptor define novel therapeutic targets for breast cancer. Eur J Endocrinol. marzo de 2004;150(3):243–55.

46. Cheskis BJ, Karathanasis S, Lyttle CR. Estrogen receptor ligands modulate its interaction with DNA. J Biol Chem. el 25 de abril de 1997;272(17):11384–91.

47. Platet N, Cathiard AM, Gleizes M, Garcia M. Estrogens and their receptors in breast cancer progression: a dual role in cancer proliferation and invasion. Critical Reviews in Oncology/Hematology. el 1 de julio de 2004;51(1):55–67.

48. Sarma AV, Dunn RL, Lange LA, Ray A, Wang Y, Lange EM, et al. Genetic Polymorphisms in CYP17, CYP3A4, CYP19A1, SRD5A2, IGF-1, and IGFBP-3 and Prostate Cancer Risk in African-American Men: The Flint Men's Health Study. Prostate. el 15 de febrero de 2008;68(3):296–305.

49. Artigalás O, Vanni T, Hutz MH, Ashton-Prolla P, Schwartz IV. Influence of CYP19A1 polymorphisms on the treatment of breast cancer with aromatase inhibitors: a systematic review and meta-analysis. BMC Med. el 11 de junio de 2015; 13:139.

50. Ntais C, Polycarpou A, Tsatsoulis A. Molecular epidemiology of prostate cancer: androgens and polymorphisms in androgen-related genes. European Journal of Endocrinology. el 1 de diciembre de 2003;149(6):469–77.

51. Caciolla J, Bisi A, Belluti F, Rampa A, Gobbi S. Reconsidering Aromatase for Breast Cancer Treatment: New Roles for an Old Target. Molecules. enero de 2020;25(22):5351.

52. Wade L. Química Orgánica. 7a ed. Vol. 2. México: Pearson Educación; 2011. 656 p.

53. Rollas S, Güniz Küçükgüzel Ş. Biological Activities of Hydrazone Derivatives. Molecules. el 17 de agosto de 2007;12(8):1910–39.

54. Corey, E.J; Quart. Rev.,1971, 25, 455.

55. Cabrera-Vivas BM, Palillero-Cisneros A, Meléndez-Balbuena L, Morales-Lara L. Green Synthesis of new heterocyclic hydrazones, spectroscopic characterization. EJE. el 31 de diciembre de 2019;1–6.

56. Rahmat A, Akranth M, Tauquir A. Review of biological activity of hydrazone. Indonesian Journal of Pharmacy. 2012;23(4):193–202.

57. Fox MA, Whitesell JK. Química Orgánica. 2a ed. México: Pearson Educación; 2000. 1232 p.

58. Al-Said MS, Bashandy MS, Al-qasoumi SI, Ghorab MM. Anti-breast cancer activity of some novel 1,2-dihydropyridine, thiophene and thiazole derivatives. European Journal of Medicinal Chemistry. el 1 de enero de 2011;46(1):137–41.

59. Hassan GS, Kadry HH, Abou-Seri SM, Ali MM, Mahmoud AEED. Synthesis and in vitro cytotoxic activity of novel pyrazolo[3,4-*d*] pyrimidines and related pyrazole hydrazones toward breast adenocarcinoma MCF-7 cell line. Bioorganic & Medicinal Chemistry. el 15 de noviembre de 2011;19(22):6808–17.

60. Kumar D, Maruthi Kumar N, Ghosh S, Shah K. Novel bis(indolyl)hydrazide–hydrazones as potent cytotoxic agents. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. el 1 de enero de 2012;22(1):212–5.

61. Effenberger K, Breyer S, Schobert R. Modulation of doxorubicin activity in cancer cells by conjugation with fatty acyl and terpenyl hydrazones. European Journal of Medicinal Chemistry. el 1 de mayo de 2010;45(5):1947–54.

62. Cui Z, Li Y, Ling Y, Huang J, Cui J, Wang R, et al. New class of potent antitumor acylhydrazone derivatives containing furan. European Journal of Medicinal Chemistry. el 1 de diciembre de 2010;45(12):5576–84.

63. Fan C, Su H, Zhao J, Zhao B, Zhang S, Miao J. A novel copper complex of salicylaldehyde pyrazole hydrazone induces apoptosis through up-regulating integrin β4 in H322 lung carcinoma cells. European Journal of Medicinal Chemistry. el 1 de abril de 2010;45(4):1438–46.

64. Medina-Franco JL, Fernández-de Gortari E, Naveja JJ. Avances en el diseño de fármacos asistido por computadora. Educación Química. el 1 de julio de 2015;26(3):180–6.

65. Ferreira LG, Dos Santos RN, Oliva G, Andricopulo AD. Molecular Docking and Structure-Based Drug Design Strategies. Molecules. julio de 2015;20(7):13384–421.

66. Batool M, Ahmad B, Choi S. A Structure-Based Drug Discovery Paradigm. International Journal of Molecular Sciences. enero de 2019;20(11):2783.

67. Batool M, Choi S. Identification of druggable genome in staphylococcus aureus multidrug resistant strain. En: 2017 IEEE Life Sciences Conference (LSC) [Internet]. 2017 [citado el 12 de noviembre de 2023]. p. 270–3. Disponible en: https://ieeexplore.ieee.org/abstract/document/8268195?casa_token=ctjJL2mzRmgAAAAA:YDrbnR00JcAW9Pqzd5VSp7-Levi71L9vK_qQQWnnyLE0c3QOmMIidTjCtrCASsu858reSeOtsC0A

68. Mandal S, Moudgil M, Mandal SK. Rational drug design. European Journal of Pharmacology. el 25 de diciembre de 2009;625(1):90–100.

69. Urwyler S. Allosteric modulation of family C G-protein-coupled receptors: from molecular insights to therapeutic perspectives. Pharmacol Rev. marzo de 2011;63(1):59–126.

70. Aparoy P, Kumar Reddy K, Reddanna P. Structure and Ligand Based Drug Design Strategies in the Development of Novel 5-LOX Inhibitors. Curr Med Chem. agosto de 2012;19(22):3763–78.

71. Kurogi Y, Güner OF. Pharmacophore modeling and three-dimensional database searching for drug design using catalyst. Curr Med Chem. julio de 2001;8(9):1035–55.

72. Scior T, Bender A, Tresadern G, Medina-Franco JL, Martínez-Mayorga K, Langer T, et al. Recognizing Pitfalls in Virtual Screening: A Critical Review. J Chem Inf Model. el 23 de abril de 2012;52(4):867–81.

73. Kitchen DB, Decornez H, Furr JR, Bajorath J. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. Nat Rev Drug Discov. noviembre de 2004;3(11):935–49.

74. Prada-Gracia D, Huerta-Yépez S, Moreno-Vargas LM. Application of computational methods for anticancer drug discovery, design, and optimization. Boletín Médico Del Hospital Infantil de México (English Edition). el 1 de noviembre de 2016;73(6):411–23.

75. Krovat EM, Steindl T, Langer T. Recent Advances in Docking and Scoring. Current Computer - Aided Drug Design. el 1 de enero de 2005;1(1):93–102.

76. Moitessier N, Englebienne P, Lee D, Lawandi J, Corbeil CR. Towards the development of universal, fast and highly accurate docking/scoring methods: a long way to go. British Journal of Pharmacology. 2008;153(S1):S7–26.

77. Guedes IA, Pereira FSS, Dardenne LE. Empirical Scoring Functions for Structure-Based Virtual Screening: Applications, Critical Aspects, and Challenges. Frontiers in Pharmacology [Internet]. 2018 [citado el 12 de noviembre de 2023];9. Disponible en: https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2018.01089

78. Muegge I. PMF Scoring Revisited. J Med Chem. el 1 de octubre de 2006;49(20):5895–902

79. Medina-Franco JL. Advances in computational approaches for drug discovery based on natural products. Revista latinoamericana de química. 2013;41(2):95–110.

80. Nicola G, Liu T, Gilson MK. Public domain databases for medicinal chemistry. Journal of medicinal chemistry. 2012;55(16):6987–7002.

81. Groom CR, Allen FH. Crystal structure information in drug discovery and development: current perspectives and new possibilities from the Cambridge Crystallographic Data Centre. 2010;

82. Bruno IJ, Cole JC, Edgington PR, Kessler M, Macrae CF, McCabe P, et al. New software for searching the Cambridge Structural Database and visualizing crystal structures. Acta Crystallographica Section B. 2002;58(3–1):389–97.

83. Macrae CF, Bruno IJ, Chisholm JA, Edgington PR, McCabe P, Pidcock E, et al. Mercury CSD 2.0– new features for the visualization and investigation of crystal structures. Journal of Applied Crystallography. 2008;41(2):466–70.

84. Lavecchia A, Cerchia C. *Métodos in silico* para abordar la polifarmacología: estado actual, aplicaciones y perspectivas futuras. Drug Discovery Today. el 1 de febrero de 2016;21(2):288–98.

85. Daina A, Michielin O, Zoete V. SwissTargetPrediction: updated data and new features for efficient prediction of protein targets of small molecules. Nucleic Acids Research. el 2 de julio de 2019;47(W1): W357–64.

86. SwissTargetPrediction [Internet]. Swisstargetprediction.ch. 2019 [citado el 2024 Feb 24]. Available from: http://www.swisstargetprediction.ch/

87. The UniProt Consortium. UniProt: the universal protein knowledgebase. Nucleic Acids Research. el 4 de enero de 2017;45(D1): D158–69.

88. The UniProt Consortium. UniProt: a hub for protein information. Nucleic Acids Research. el 28 de enero de 2015;43(D1): D204–12.

89. Suzek BE, Wang Y, Huang H, McGarvey PB, Wu CH, the UniProt Consortium. UniRef clusters: a comprehensive and scalable alternative for improving sequence similarity searches. Bioinformatics. el 15 de marzo de 2015;31(6):926–32.

90. Leinonen R, Diez FG, Binns D, Fleischmann W, Lopez R, Apweiler R. UniProt archive. Bioinformatics. el 22 de noviembre de 2004;20(17):3236–7.

91. Bank PD. Crystallography: Protein Data Bank. Nature New Biology. 1971;233(42):223–223.

92. Berman HM, Westbrook J, Feng Z, Gilliland G, Bhat TN, Weissig H, et al. The Protein Data Bank. Nucleic Acids Research. el 1 de enero de 2000;28(1):235–42.

93. Burley SK, Berman HM, Kleywegt GJ, Markley JL, Nakamura H, Velankar S. Protein Data Bank (PDB): The Single Global Macromolecular Structure Archive. Methods Mol Biol. 2017; 1607:627–41

94. Berman H, Henrick K, Nakamura H, Markley JL. The worldwide Protein Data Bank (wwPDB): ensuring a single, uniform archive of PDB data. Nucleic Acids Research. el 1 de enero de 2007;35(suppl_1): D301–3.

95. Meyer PA, Socias S, Key J, Ransey E, Tjon EC, Buschiazzo A, et al. Data publication with the structural biology data grid supports live analysis. Nat Commun. el 7 de marzo de 2016; 7:10882.

96. Escalona Arranz J, Carrasco-Velar R, Padrón-García J. Introducción al diseño racional de fármacos. La Habana: Editorial Universitaria; 2008. 45 p.

97. Marovac J. Investigación y desarrollo de nuevos medicamentos: de la molécula al fármaco. Revista médica de Chile. enero de 2001;129(1):99–106.

98. Kalyaanamoorthy S, Chen YPP. Structure-based drug design to augment hit discovery. Drug Discovery Today. el 1 de septiembre de 2011;16(17):831–9.

99. Advancing Structural Science | CCDC [Internet]. Cam.ac.uk. 2022 [cited 2024 Feb 24]. Disponible en: https://www.ccdc.cam.ac.uk/

100. Mercury | CCDC [Internet]. Cam.ac.uk. 2022 [cited 2024 Feb 25]. Disponible en: https://www.ccdc.cam.ac.uk/solutions/software/mercury/

101. UniProt [Internet]. Uniprot.org. 2024 [cited 2024 Feb 24]. Disponible en: https://www.uniprot.org/

102. Colozza M, Califano R, Minenza E, Dinh P, Azambuja E. Inhibidores de la aromatasa: una nueva realidad para el tratamiento endocrino adyuvante del cáncer de mama en estadio temprano en mujeres posmenopáusicas. Mini Reseñas en Química Medicinal. 1 de junio de 2008; 8(6):564-74

103. Schajnovitz A, Scadden D. Methods of Treating Cancer with Carbenoxolone. WO2019246158A1, 2019.

104. Data P. RCSB PDB: Homepage [Internet]. Rcsb.org.2024 [cited 2024 Feb 24]. Disponible en: https://www.rcbs.org/

105. Schrödinger, L.E. Schrödinger Release 2023-4: *Protein Preparation Wizard*; Schrödinger Inc.: Nueva York, NY, EE. UU., 2023.

106. Schrödinger Release 2021-3: Prime, Schrödinger, LLC, New York, NY, EE. UU., 2023

107. Lu C, Wu C, Ghoreishi D, Chen W, Wang L, Damm W, et al. OPLS4: Improving force field accuracy on challenging regimes of chemical space. Journal of chemical theory and computation. 2021;17(7):4291–300.

108. Carrasco-Carballo A, Marín-Merino E, Merino-Montiel P, Colin-Lozano B, Hilerio SLC, Hilario-Martínez JC, et al. Steroidal Plant Growth Promoters vs. Phytopathogens, via Enzymatic Regulation; An in <i>Silico</i> Approach. AER. 2021;09(04):55–71.

109. Versión de Schrödinger 2023-4: LigPrep, Schrödinger, LLC, Nueva York, NY.

110. Versión de Schrödinger 2023-4: Glide, Schrödinger, LLC, Nueva York, NY.

111. Carrasco-Carballo A, Mendoza-Lara DF, Rojas-Morales JA, Alatriste V, Merino-Montiel P, Luna F, et al. In silico Study of Coumarins Derivatives With Potential Use in Systemic Diseases. Biointerface Res Appl Chem. el 6 de junio de 2022;13(3):240.

112. Kupczyk D, Studzińska R, Baumgart S, Bilski R, Kosmalski T, Kołodziejska R, et al. A Novel N-Tert-Butyl Derivatives of Pseudothiohydantoin as Potential Target in Anti-Cancer Therapy. Molecules. enero de 2021;26(9):2612.

113. Rivière G, Jaipuria G, Andreas LB, Leonov A, Giller K, Becker S, et al. Membrane-embedded TSPO: an NMR view. Eur Biophys J. el 1 de marzo de 2021;50(2):173–80.

114. Doré AS, Okrasa K, Patel JC, Serrano-Vega M, Bennett K, Cooke RM, et al. Structure of class C GPCR metabotropic glutamate receptor 5 transmembrane domain. Nature. julio de 2014;511(7511):557–62.

115. Patel KD, Davison JS, Pittman QJ, Sharkey KA. Cannabinoid CB2 Receptors in Health and Disease. Current Medicinal Chemistry. 17(14):1394–410.

116. Boison D. Adenosine as a neuromodulator in neurological diseases. Current Opinion in Pharmacology. el 1 de febrero de 2008;8(1):2–7.

117. Gessi S, Merighi S, Varani K, Borea PA. Chapter 2 - Adenosine Receptors in Health and Disease. En: Jacobson KA, Linden J, editores. Advances in Pharmacology [Internet]. Academic Press; 2011 [citado el 16 de enero de 2024]. p. 41–75. (Pharmacology of Purine and Pyrimidine Receptors; vol. 61). Disponible en: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123855268000023

118. Molehin D, Rasha F, Rahman RL, Pruitt K. Regulation of aromatase in cancer. Mol Cell Biochem. el 1 de junio de 2021;476(6):2449–64.

119. Dezsi L, Vecsei L. Monoamine Oxidase B Inhibitors in Parkinson's Disease. CNS & Neurological Disorders - Drug Targets. 16(4):425–39.

120. Ballón Paucara WG, Grados Torrez RE. Acomplamiento molecular: criterios prácticos para la selección de ligandos biológicamente activos e identificación de nuevos blancos terapéuticos. Revista CON-CIENCIA. noviembre de 2019;7(2):55–72.

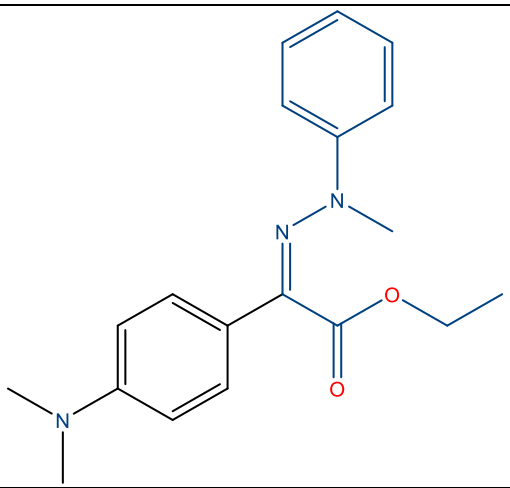
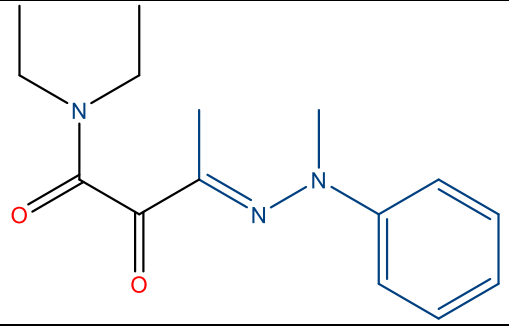
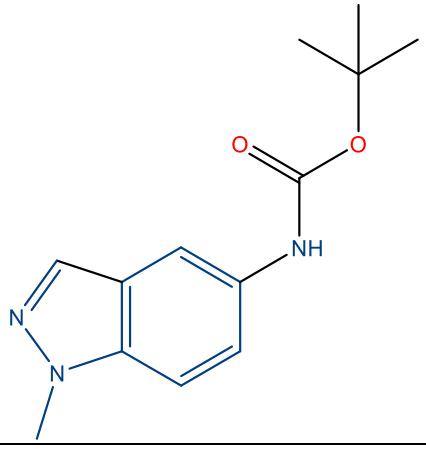
121. Lintermans A, Neven P, Paridaens R. Drug safety evaluation of exemestane. Expert Opin Drug Saf. mayo de 2011;10(3):473–87.

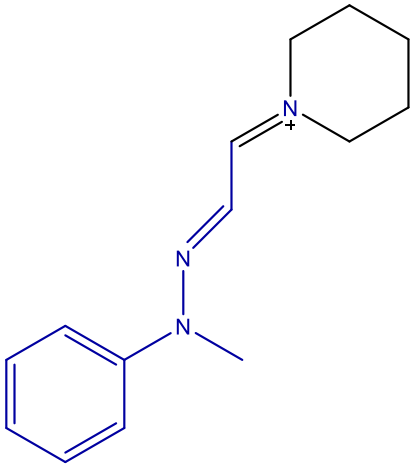
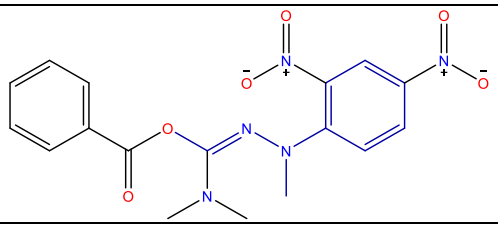
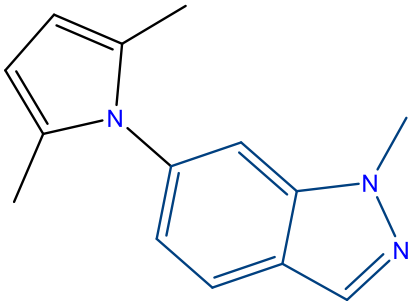
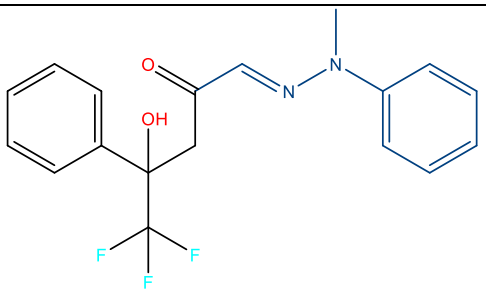
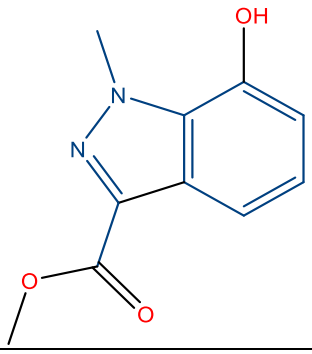
122. Cubides MP, Marín RM. Contribución a la determinación de las interacciones claves en la inhibición de la aromatasa humana [Internet]. [Bogotá, Colombia]: Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales; 2023 [citado el 16 de abril de 2024]. Disponible en: https://repository.udca.edu.co/bitstream/handle/11158/5209/CubidesTF.pdf?sequence=1&isAllowed=y

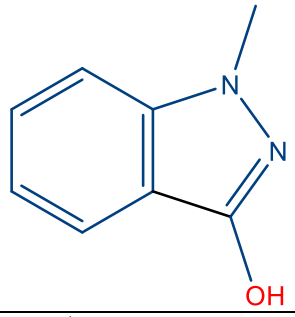
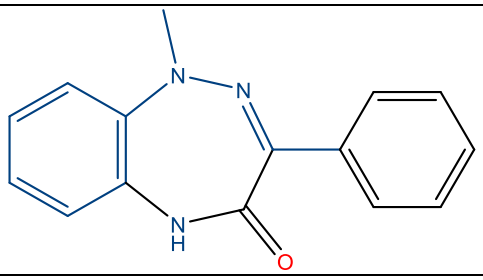
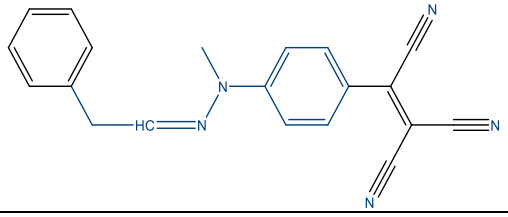
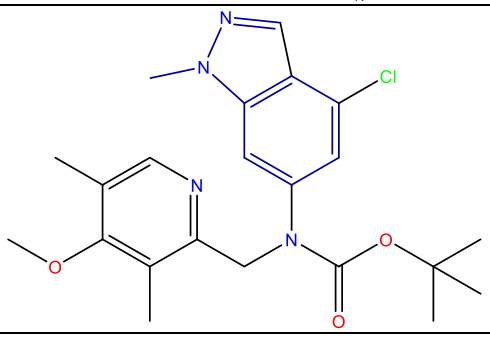
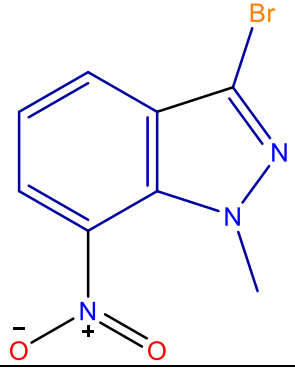
123. Yang R, Yu Y. Glucocorticoids are double-edged sword in the treatment of COVID-19 and cancers. International Journal of Biological Sciences. el 10 de abril de 2021;17(6):1530–7.

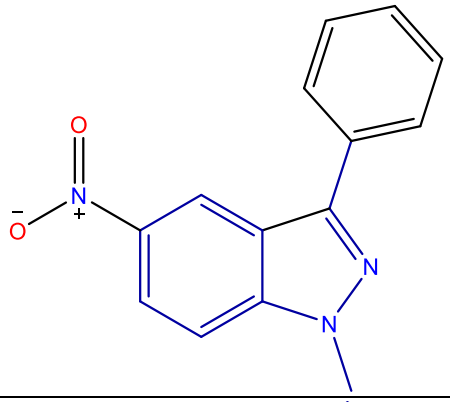
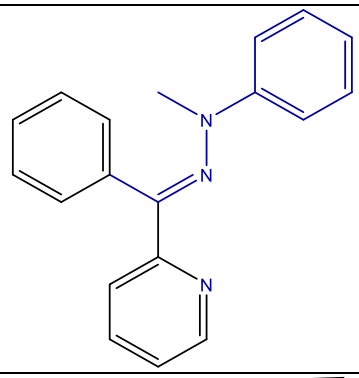
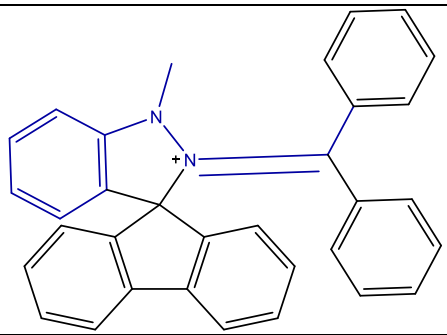
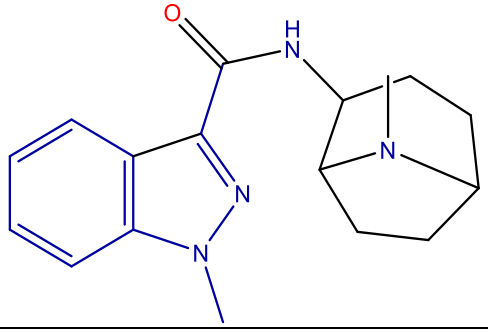
ANEXOS

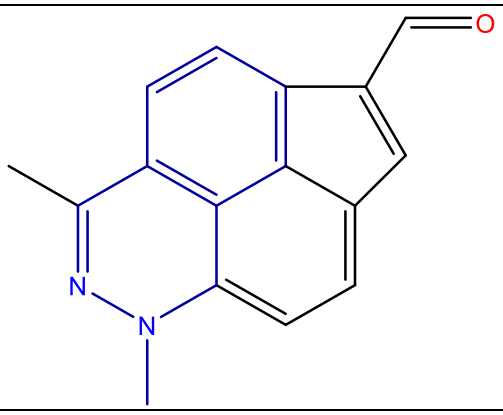
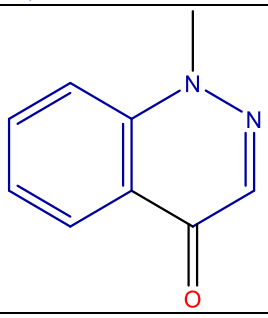
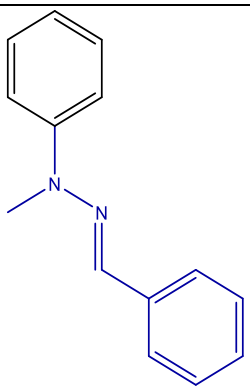
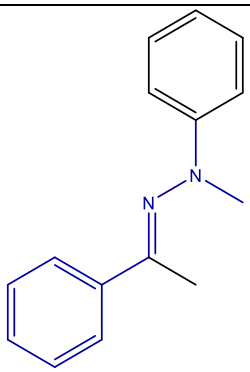
ANEXO 1

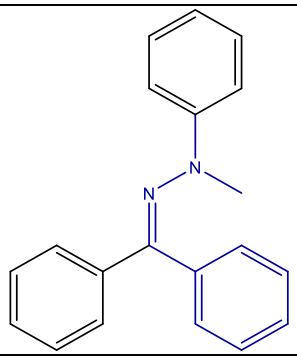
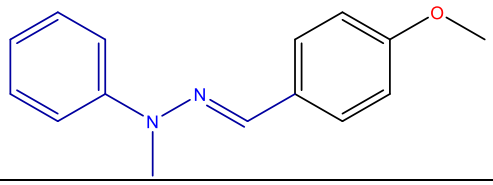
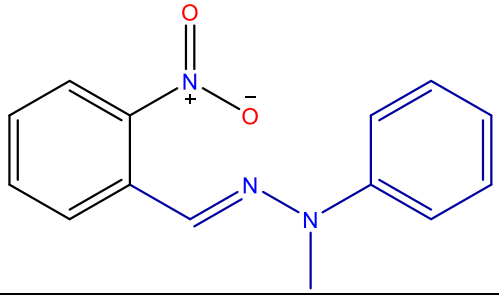
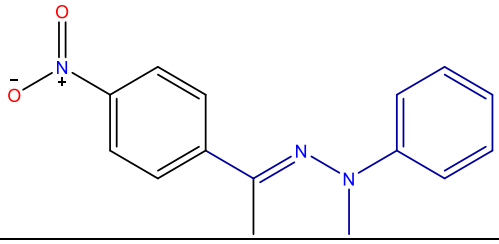
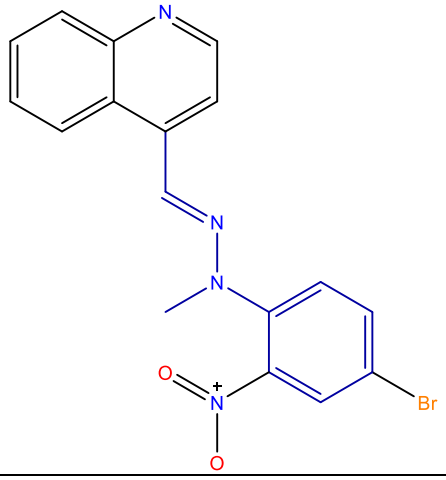
	NOMBRE	CLAVE	MOLECULA
1	[4-(dimetilamino) fenil](2-metil-2-fenilhidraziniliden) acetato de etilo	AFOQAQ	
2	N, N-dietil-3-(2-metil-2-fenilhidraziniliden)-2-oxobutanamida	AGIZAU	
3	(1-metil-1H-indazol-5-il)carbamato de t-butilo	AVITAD	

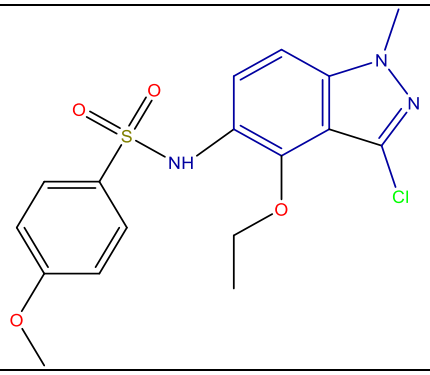
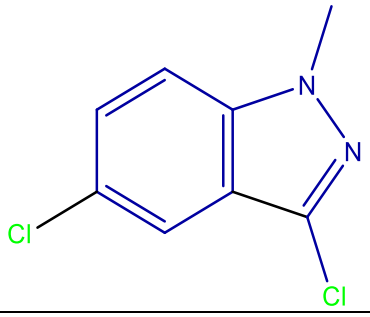
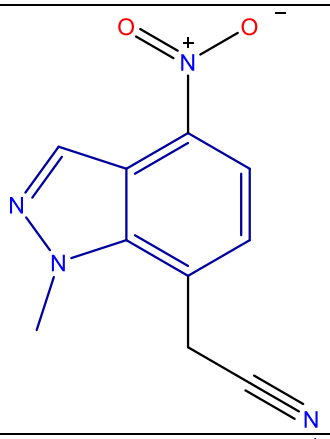
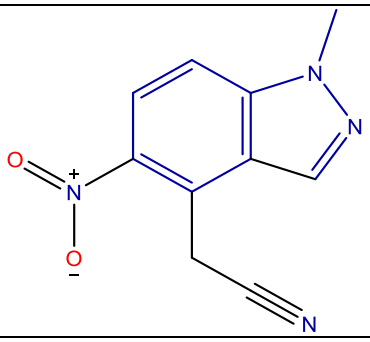
4	Yoduro de 1-(2-(metilfenilhidrazono) etiliden)pipiridinio	BAFNAX	
5	O-Benzoil-N, N-dimetil-N'-(N-metil-2,4-dinitroanilino)-isourea	BOMAIU10	
6	6-(2,5-dimetil-1H-pirrol-1-il)-1-metil-1H-indazol	CABHUL	
7	5,5,5-trifluoro-4-hidroxi-1-(2-metil-2-fenilhidraziniliden)-4-fenilpentan-2-ona	CAPDUW	
8	Solvato desconocido de 7-hidroxi-1-metil-1H-indazol-3-carboxilato de metilo	CEFHAA	

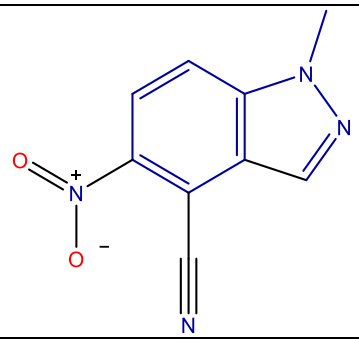
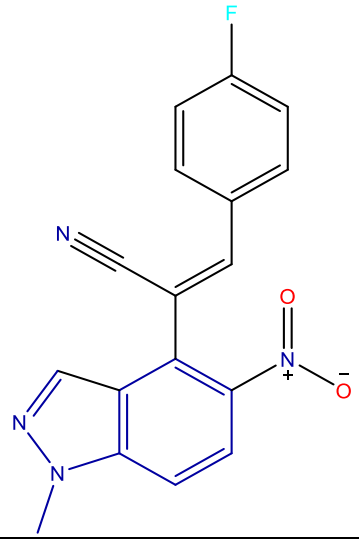
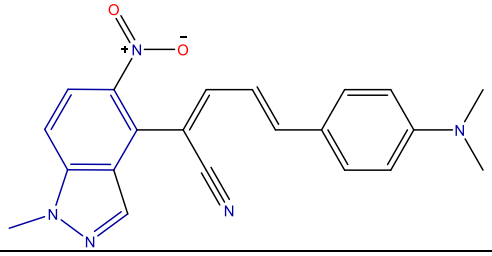
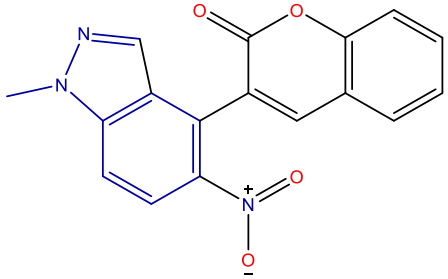
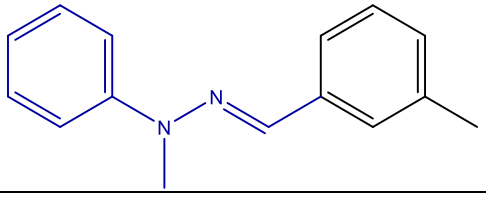
9	1-metil-1H-indazol-3-ol	CORJOK	
10	1-Metil-3-fenil-1,5-dihidro-4H-1,2,5-benzotriazepin-4-ona	COSNAA	
11	Benzaldehído-p-(tricianoviniliden)-metil-fenilhidrazona	CUKJEX	
12	(4-cloro-1-metil-1H-indazol-6-yl)((4-metoxi-3,5-dimetilpiridin-2-il)metil)carbamato de t-butilo	DAJCAV	
13	3-Bromo-1-metil-7-nitro-1H-indazol	EMAZIC	

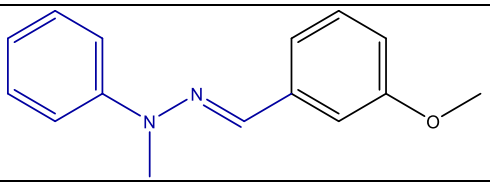
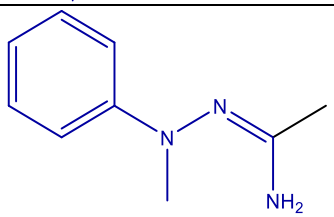
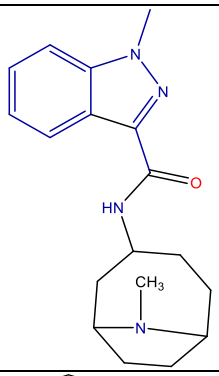
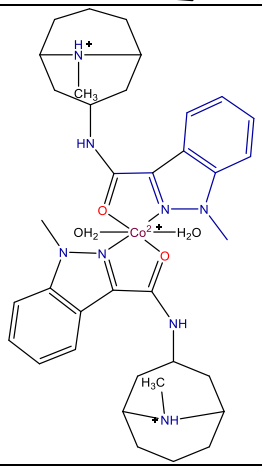
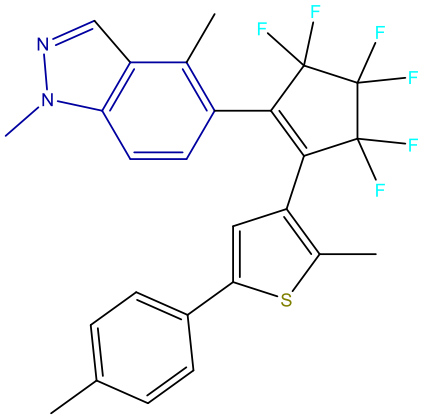
14	1-metil-5-nitro-3-fenil-1H-indazol	EQASOG	
15	2-Benzoilpiridina N-metil-N-fenilhidrazona	EXIYEP	
16	Trifluorometanosulfonato de 2'-(difenilmetiliden)-1'-metil-1',2'-dihidrospiro[fluoreno-9,3'-indazol[2]io]	FITOQ	
17	N-(8-Metil-8-azabiciclo(3.2.1)octan-3-il)-1-metilindazol-3-carboxamida	FIZXUH	

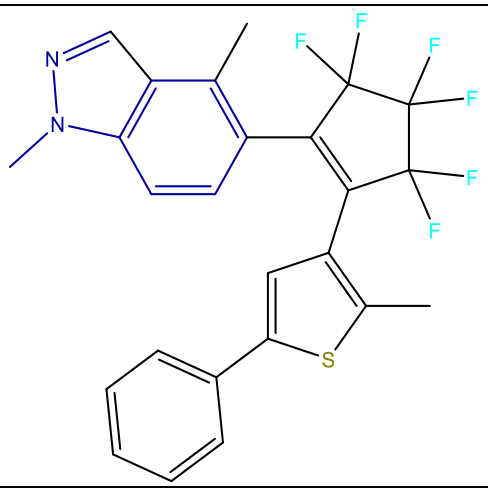
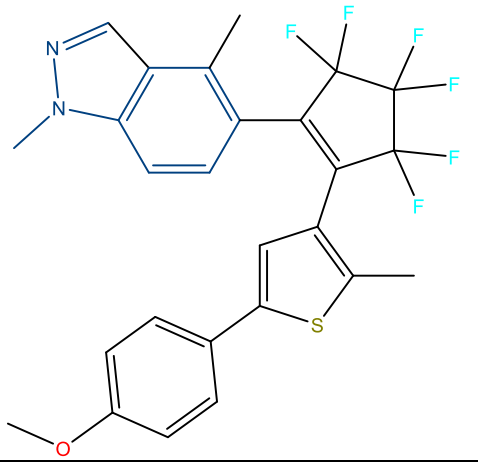
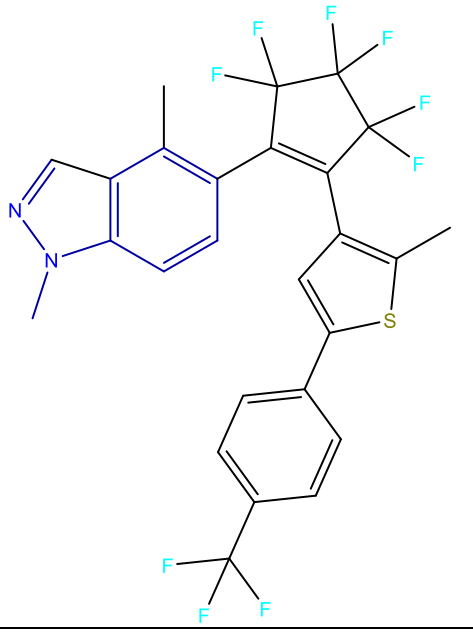
18	1,3-dimetil-1H-indeno[6,7,1-def]cinnolin-6-carbaldehído	FOSLAC	
19	1-Metilcinnolin-4-ona	FUTDIH	
20	Benzaldehído metil(fenil) hidrazona	GATNEU	
21	Acetofenona metil(fenil) hidrazona	GATNIY	

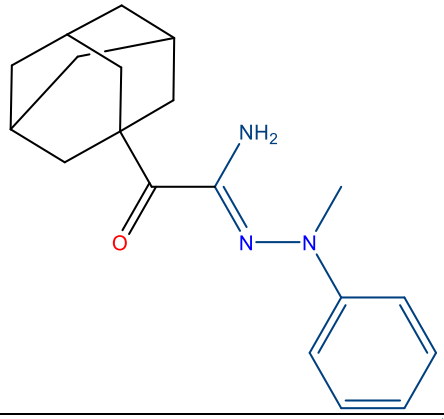
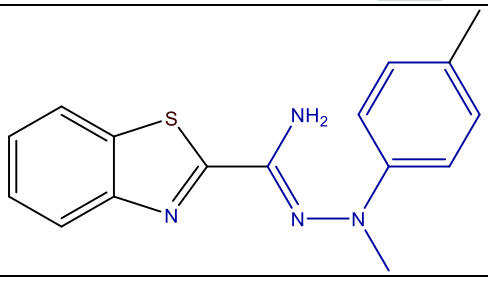
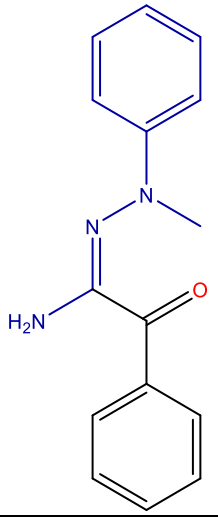
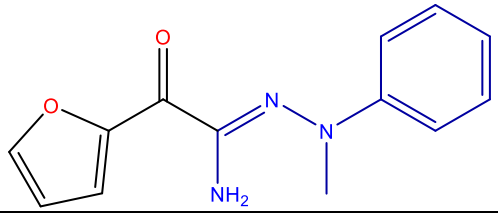
22	Benzofenona metil(fenil) hidrazona	GATNOE	
23	p-Metoxibenzaldehído metil(fenil) hidrazona	GATPAS	
24	2-Nitrobenzaldehído metil(fenil) hidrazona	GATPEW	
25	1-metil-2-(1-(4-nitrofenil) etiliden)-1-felhidrazina	GECTIU	
26	N-(4-Bromo-2-nitrofenil)-N-metil-N'-(quinolin-4-ilmetileno) hidrazina	HUZCEK	

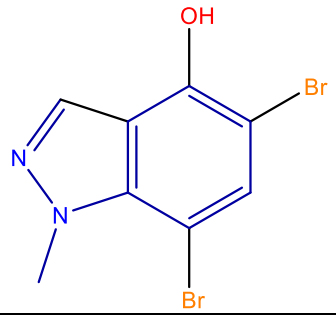
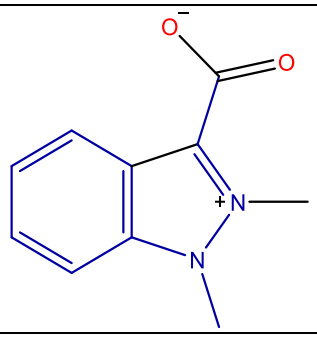
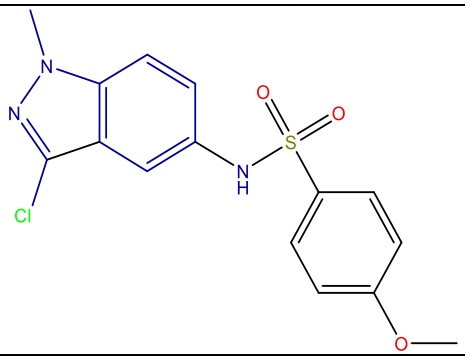
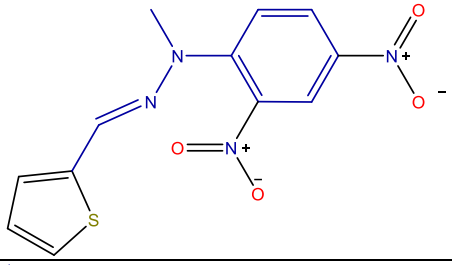
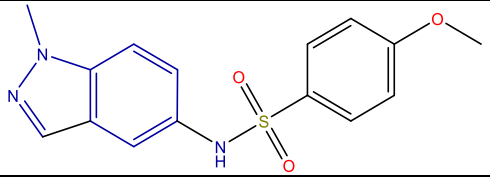
27	N-(3-cloro-4-etoxi-1-metil-1H-indazol-5-il)-4-metoxibencenosulfonamida	JOBVED	
28	3,5-dicloro-1-metil-1H-indazol	JODKOE	
29	(1-metil-4-nitro-1H-indazol-7-il) acetonitrilo	JOMCEW	
30	(1-metil-6-nitro-1H-indazol-7-il) acetonitrilo	JOMCOG	

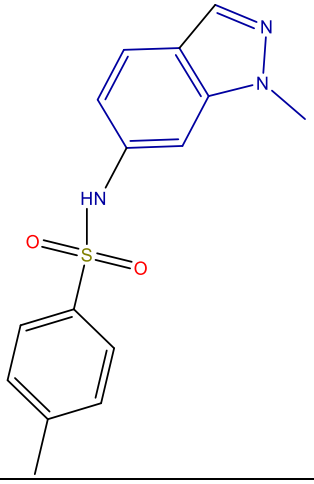
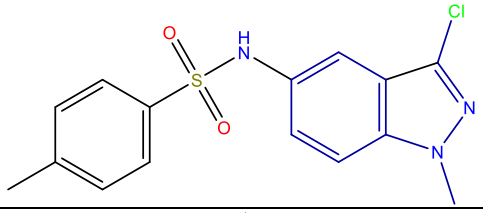
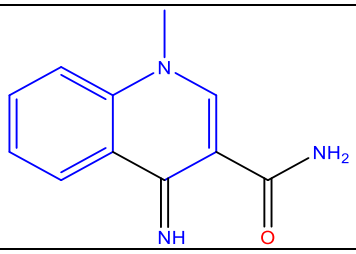
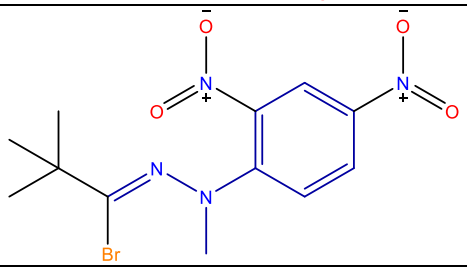
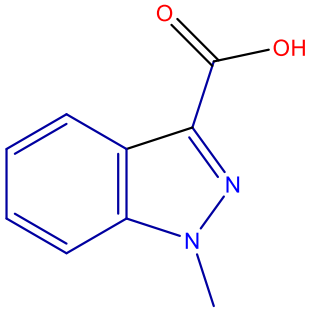
31	(1-metil-5-nitro-1H-indazol-4-il) acetonitrilo	JOMCUM	
32	3-(4-fluorofenil)-2-(1-metil-5-nitro-1H-indazol-4-il) prop-2-enonitrilo	JUDHEY	
33	5-[4-(dimetilamino) fenil]-2-(1-metil-5-nitro-1H-indazol-4-il) penta-2,4-dienonitrilo	JUDHIC	
34	3-(1-metil-5-nitro-1H-indazol-4-il) -2H-1-benzopiran-2-ona	JUDHOI	
35	3-Metilbenzaldehído N-metil-N-fenilhidrazona	KEHVAU	

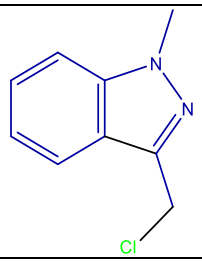
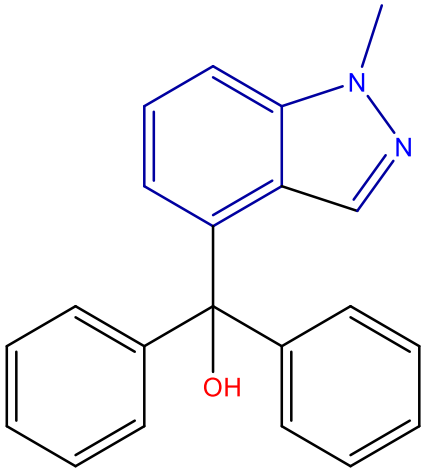
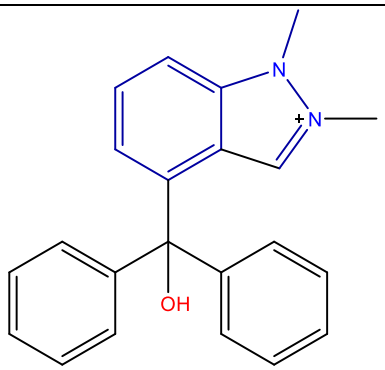
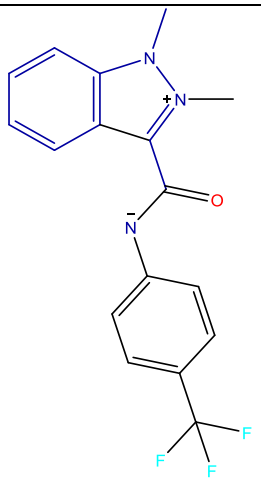
36	3-Metoxibenzaldehído N-metil-N-fenilhidrazona	KEHVEY	
37	N'-metil-N'-feniletanehidrazonamida	KIZCEC	
38	endo-1-metil-N-(9-metil-9-azabiciclo[3.3.1]non-3-il)-1H-indazol-3-carboxamida	KUQDAC	
39	Tetracloruro de diaqua- [1-metil-N-(9-metil-9-azoniabiciclo [3.3.1]nonan-7-il) indazol-3-carboxamida]-cobalto(II) dodecahidrato	KUQDEG	
40	5-(3,3,4,4,5,5-hexafluoro-2-(2-metil-5-(4-metilfenil)-3-tienil) ciclopent-1-en-1-il)-1,4-dimetil-1H-indazol	LUGZUK	

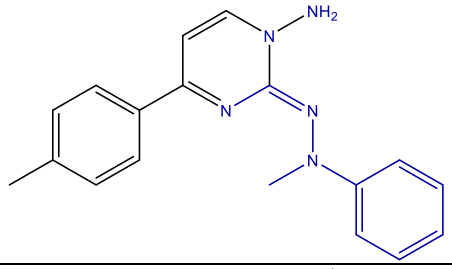
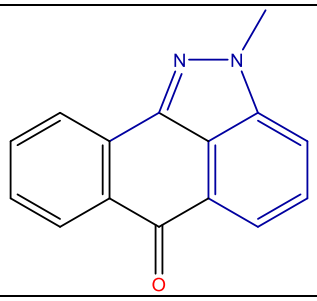
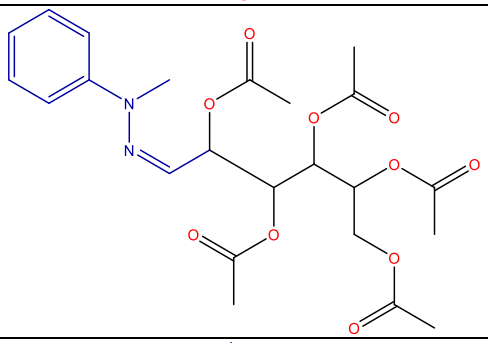
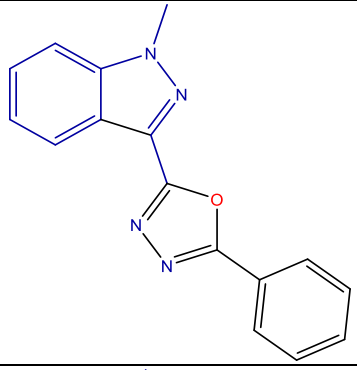
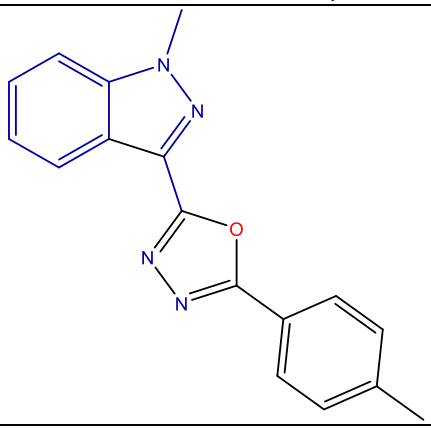
41	5-(3,3,4,4,5,5-hexafluoro-2-(2-metil-5-fenil-3-tienil) ciclopent-1-en-1-il)-1,4-dimetil-1H-indazol	LUJZIB	
42	5-(3,3,4,4,5,5-Hexafluoro-2-(5-(4-metoxifenil)-2-metil-3-tienil) ciclopent-1-en-1-il)-1,4-solvato de dimetil-1H-indazol n-hexano	LUTHAL	
43	5-(3,3,4,4,5,5-Hexafluoro-2-(2-metil-5-(4-(trifluorometil) fenil)-3-tienil) ciclopent-1-en-1-il)-1,4-dimetil-1H-indazol	LUTHEP	

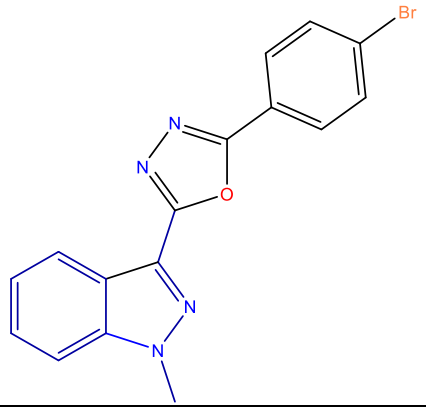
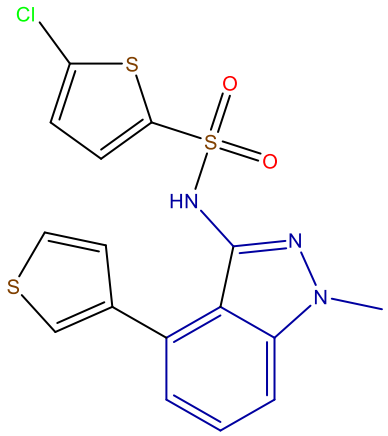
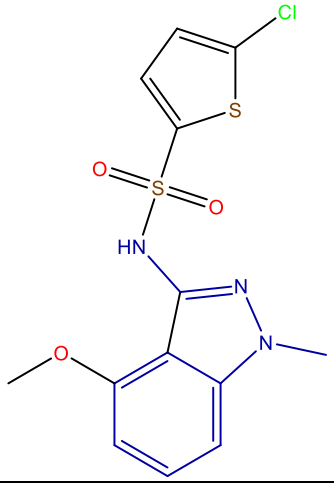
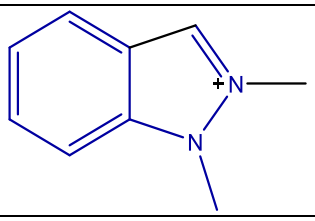
44	(adamantan-1-il)-N'-metiloxo-N'-feniletanohidrazonamida	MAGHOV	
45	N'-metil-N'-(4-metilfenil)-1,3-benzotiazol-2-carbohidrazonamida	MAGJAJ	
46	N'-metil(oxo)-N'-difeniletanehidrazonamida	MAGLOZ	
47	(furan-2-il)-N'-metiloxo-N'-feniletanohidrazonamida	MAGNUH	

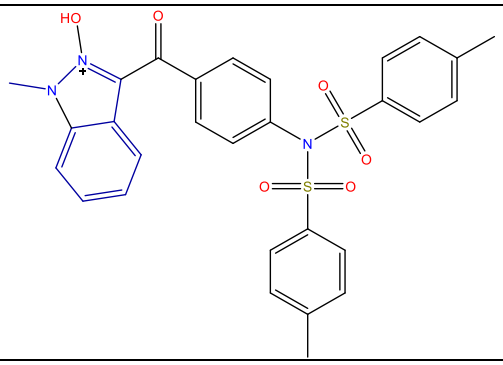
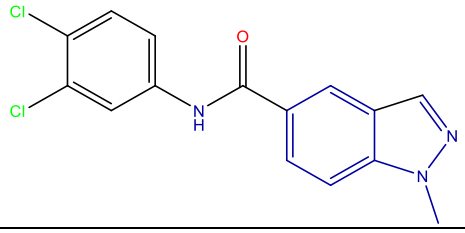
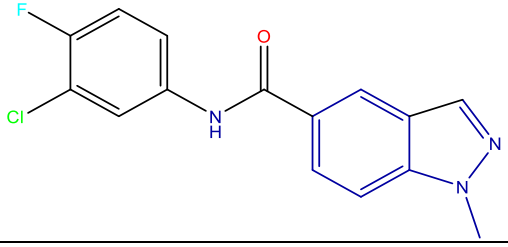
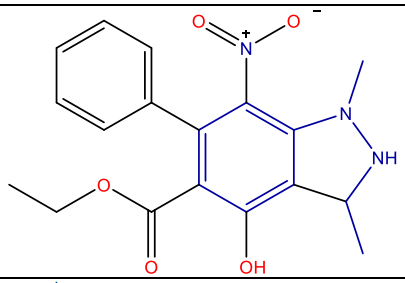
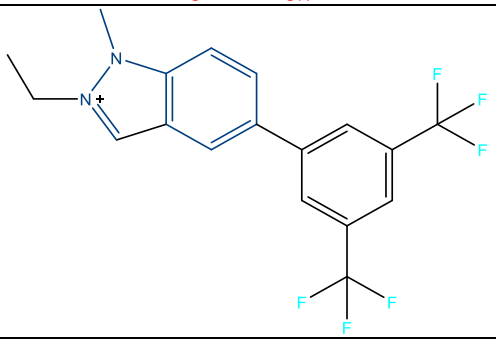
48	5,7-Dibromo-1-metil-1H-indazol-4-ol	MANBEK	
49	Hidrato de 3-carboxilato de 1,2-Dimetilindazolio	MINJAV	
50	N-(3-Cloro-1-metil-1H-indazol-5-il) -4-metoxibencenosulfonamida	MOKPAF	
51	Tiofen-2-carbaldehído N-(2,4-dinitrofenil)-N-metilhidrazona	NIMCER	
52	4-Metoxi-N-(1-metil-1H-indazol-5-il) bencenosulfonamida	NINTOV	

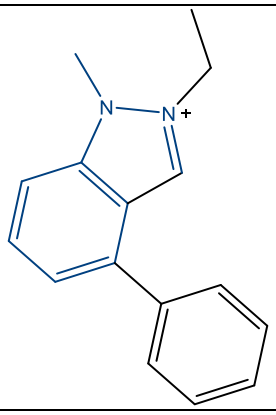
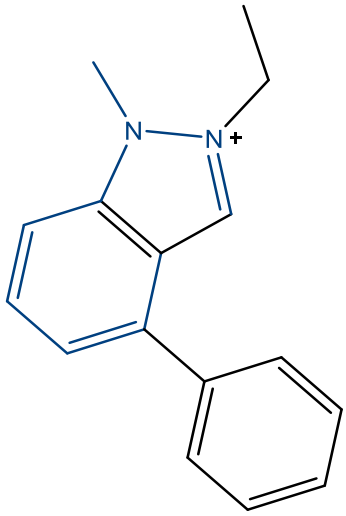
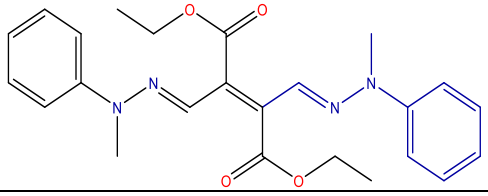
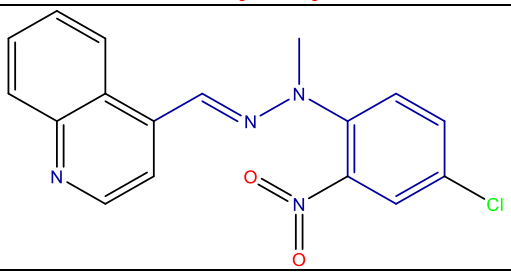
53	4-Metil-N-(1-metil-1H-indazol-5-il)bencenosulfonamida	NIPFEZ	
54	N-(3-Cloro-1-metil-1H-indazol-5-il) -4-metilbencenosulfonamida	NITZIB	
55	3-Carbamoilo-1,4-dihidro-4-imino-1-metilcinolina	NIVPEN	
56	Bromuro de N-(2,4-Dinitrofenil)-N-metil-pivaloilhidrazonilo	NPIVHB	
57	Ácido 1-Metil-1H-indazol-3-carboxílico	OGECUZ	

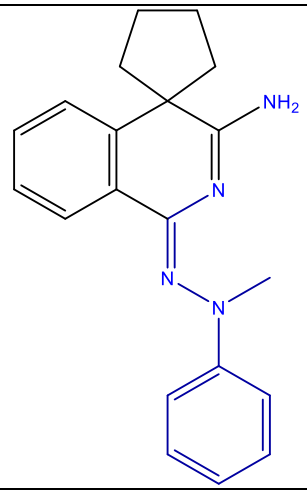
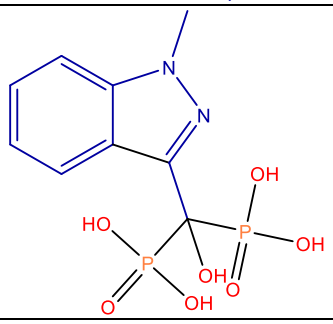
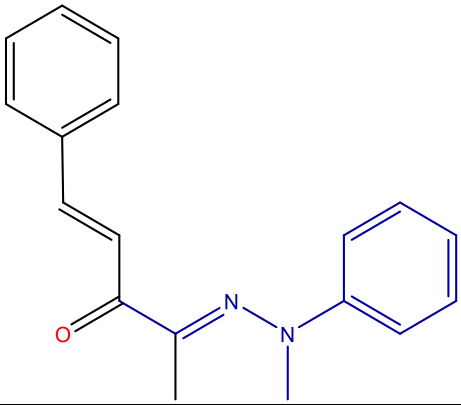
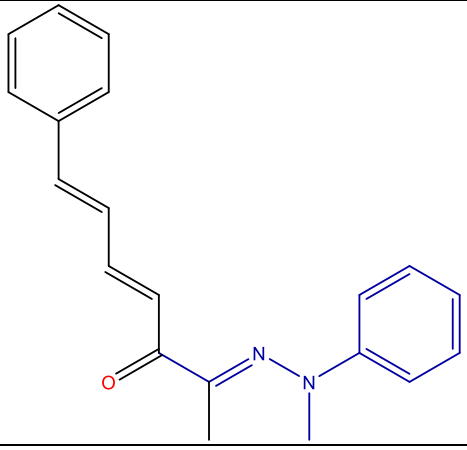
58	3-(Clorometil) -1-metil-1H-indazol	OQUTOK	
59	(1-metil-1H-indazol-4-il)(difenil) metanol	OYULOM	
60	Cloruro de 4-[hidroxi(difenil)metil]-1,2-dimetil-1H-indazol-2-io	OYUMAZ	
61	1,2-dimetil-1H-bencimidazolio-3-(N-(4-trifluorometilfenil))amidata N,N'-bis(4-trifluorometil)urea	PEZJUA	

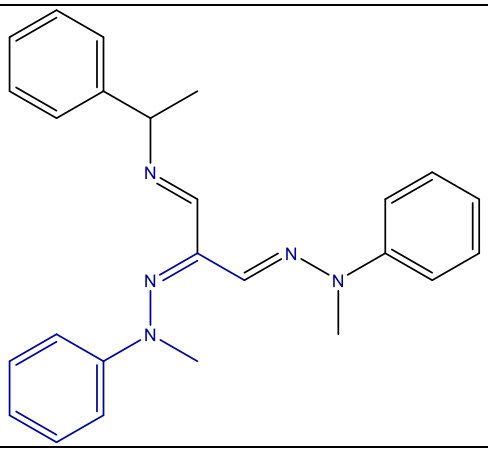
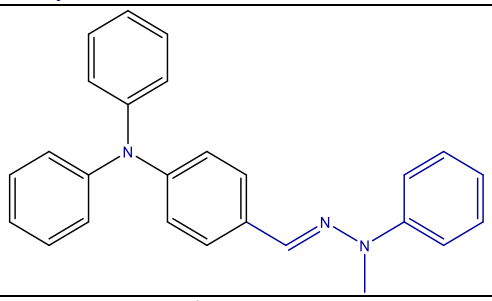
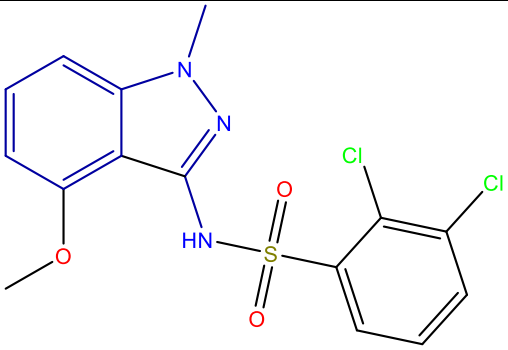
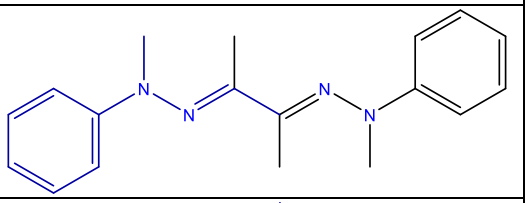
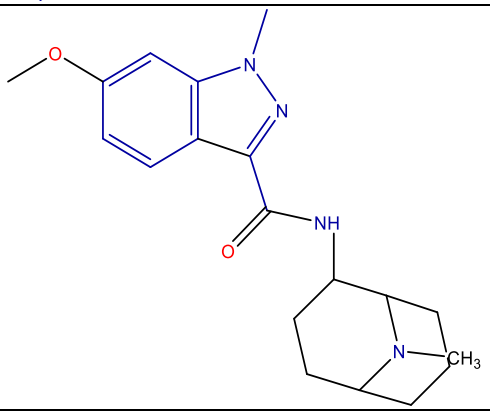
62	(2-((N, N-metilfenil) hidrazono)-4-p-tolil-2H-pirimidin-1-il) amina	PINJUT	
63	2-metildibenzo[cd, g]indazol-6(2H)-ona	POGPAE	
64	Pentaacetato de 6-(2-metil-2-fenilhidraziniliden)hexano-1,2,3,4,5-pentailo	POHDIC	
65	1-metil-3-(5-fenil-1,3,4-oxadiazol-2-il)-1H-indazol	PUQSOM	
66	1-metil-3-[5-(4-metilfenil)-1,3,4-oxadiazol-2-il]-1H-indazol	PUQSUS	

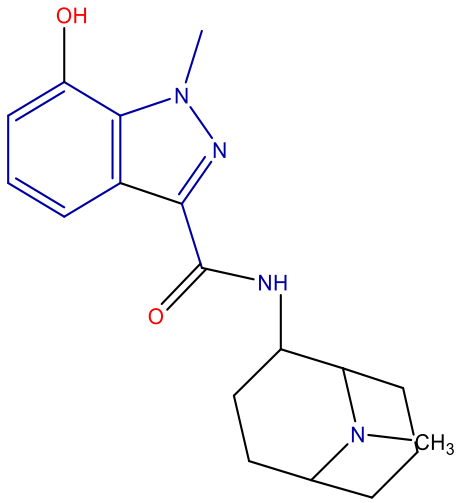
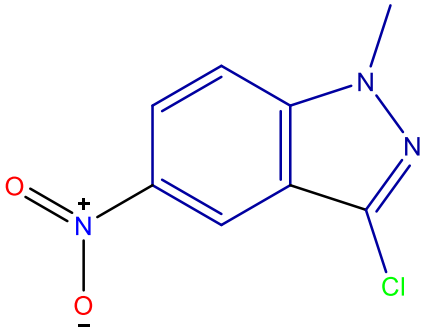
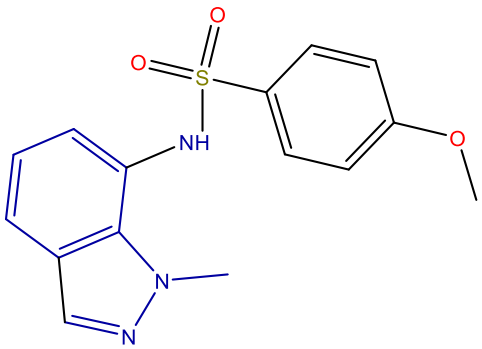
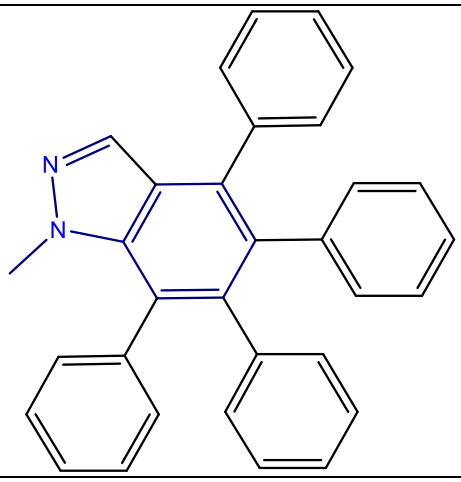
67	3-[5-(4-bromofenil)-1,3,4-oxadiazol-2-il]-1-metil-1H-indazol	PUQTAZ	
68	5-cloro-N-(1-metil-4-(3-tienil)-1H-indazol-3-il) tiofene-2-sulfonamida	QAGSID	
69	5-cloro-N-(4-metoxi-1-metil-1H-indazol-3-il) tiofen-2-sulfonamida	QAGSOJ	
70	Trifluorometanosulfonato de 1,2-dimetil-1H-indazol-2-io	QATZAQ	

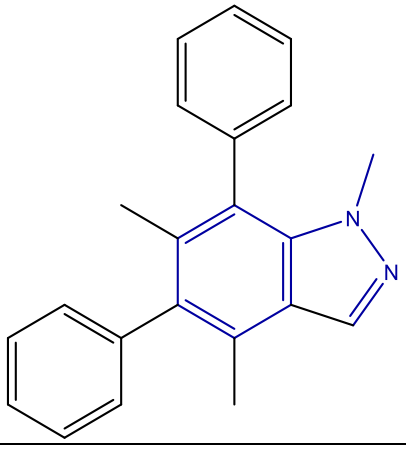
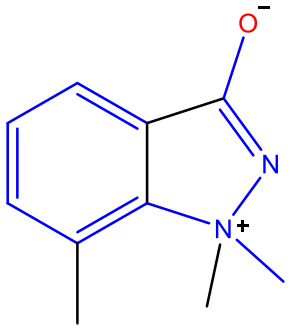
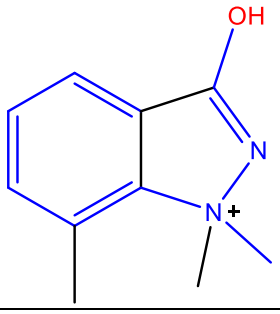
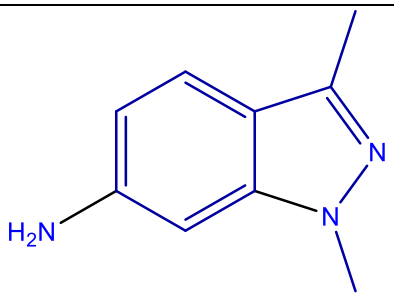
71	Solvato de diclorometano de 4-metil-N-(4-metilbenceno-1-sulfonil)-N-[4-(1-metil-2-oxoindazol-3-carbonil) fenil]benceno-1-sulfonamida	QOLMOW	
72	N-(3,4-diclorofenil)-1-metil-1H-indazol-5-carboxamida	RAGYEG	
73	N-(3-cloro-4-fluorofenil)-1-metil-1H-indazol-5-carboxamida	RAGYIK	
74	4-hidroxi-1,3-dimetil-7-nitro-6-fenil-1H-indazol-5-carboxilato de etilo	RAXHUX	
75	Tetrafluoroborato de 4-[3,5-bis(trifluorometil) fenil]-2-etil-1-metil-1H-indazol-2-io	RIFGIZ	

76	Tetrafluoroborato de 2-etil-1-metil-4-fenil-1H-indazol-2-io	RIFGOF	
77	Cloruro de 2-etil-1-metil-4-fenil-1H-indazol-2-io	RIFKEZ	
78	2,3-bis(metil(fenil) carbonohidrazonoil) but-2-enidioato de dietilo	SODFEY	
79	N-(4-Cloro-2-nitrofenil)-N-metil-N'-(quinolin-4-ilmetilen) hidrazina	TAQVAJ	

80	1'-(metil(fenil)hidrazono)-1'H-spiro[ciclopentano-1,4'-isoquinolin]-3'-amina	UKEROT	
81	Solvato de metanol de [hidroxi (1-metil-1H-indazol-3-il) metilen]bis (ácido fosfónico)	VAVGUY	
82	4-(2-metil-2-fenilhidrazono)-1-fenilpent-1-en-3-ona	VIBJOG	
83	6-(2-metil-2-fenilhidrazono)-1-fenilhepta-1,3-dien-5-ona	VIBKIB	

84	1,2,3-tris(2-fenil-2-metilhidrazono) propano N-metilanilina	VIBLEY	
85	4-Difenilaminobenzaldehído metilfenilhidrazona	VIJPEJ	
86	2,3-dicloro-N-(4-metoxi-1-metil-1H-indazol-3-il) bencenosulfonamida	VISXUS	
87	Butano-2,3-diona bis(metilfenilhidrazona)	VOXDOB	
88	Hemihidrato de 6-Metoxi-1-metil-N-(9-metil-9-azabiciclo[3.3.1]non-3-il)-1H-indazol-3-carboxamida	VUQMAW	

89	Solvato de metanol de 7-hidroxi-1-metil-N-(9-metil-9-azabiciclo [3.3.1]non-3-il)-1H-indazol-3-carboxamida	VUQMEA	
90	3-cloro-1-metil-5-nitro-1H-indazol	WUQPAB	
91	Hemihidrato de 4-metoxi-N-(1-metil-1H-indazol-7-il) benceno-1-sulfonamida	YANGUS	
92	1-metil-4,5,6,7-tetrafenil-1H-indazol	YAPNUB	

93	1,4,6-trimetil-5,7-difenil-1H-indazol	YAPPAJ	
94	Monohidrato de óxido de 1,1,7-trimetilindazol-3-ilio	YIJHAA	
95	Nitrato de 1,1,7-trimetil-3-hidroxiindazolio	YIJHEE	
96	1,3-Dimetil-1H-indazol-6-amina	ZANZIZ	

*La molécula base de la metilfenilhidrazona, se encuentra indicada en color azul.