



Facultad de Ciencias Químicas BUAP

**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE  
PUEBLA**

**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS  
LICENCIATURA EN QUÍMICO FARMACOBIOLOGO**

“Reposicionamiento de fármacos *in silico* en nuevas  
dianas biológicas de cáncer cervical y *Mycobacterium  
tuberculosis*”

Tesis para obtener el título de:

**LICENCIADO EN QUÍMICO FARMACOBIOLOGO**

Presenta:

**Ana Patricia Mexicano Rosas**

Director de tesis:

**Dr. Alan Carrasco Carballo**

Codirector de tesis:

**Dr. Jorge Organista Nava**

Asesor de tesis:

**M. en C. Jesús Alberto Rojas Morales**

Puebla, Puebla 2022

## Dedicatoria

El presente trabajo es el resultado de años de apoyo y esfuerzo de mis padres que me dieron la vida y han estado conmigo en todo momento, a mis abuelos que siempre vieron por mi como si fueran unos padres los amo infinitamente y estoy agradecida por toda su ayuda durante estos años. Les dedico el resultado de este trabajo a toda mi familia, principalmente a mi madre Martha Patricia Rosas Muñoz la cual hizo enormes sacrificios para que pudiera realizar mis estudios en Puebla, a mis abuelos Elfego Rosas Hernández y Lucina Muñoz Gonzales los cuales siempre obtuve su apoyo desde la distancia, a mi hermano Daniel Mexicano Rosas que también fue parte importante para toda esta trayectoria. Además, a mi padre Juan Mexicano Alfonso, que siempre fue su sueño que yo llegara a concluir mis estudios universitarios, sé que no alcanzaste a ver todos estos logros, pero desde aquí te mando un abrazo hasta el cielo, también quiero darle gracias a Dios por permitirme llegar hasta aquí y concluir este sueño.

Gracias por siempre ayudarme incondicionalmente, afrontar todas las adversidades y cuando más difícil sentí todos estos años, no rendirse y darme las fuerzas para continuar, todo esto es por y para ustedes.

También quiero dedicarle este trabajo a mi esposo Eliezer Duran Hernández. Gracias por tu paciencia, por tu comprensión y empeño, por siempre darme aliento y apoyarme a que concluyera mis estudios, te amo y te agradezco de todo corazón que estes a mi lado desde hace más de seis años luchando juntos por nuestras metas y sueños.

Sin ustedes a mi lado no hubiera sido posible nada de esto, tantas noches en vela lograron su cometido, aquí está plasmado el fruto del trabajo de cinco años. Les agradezco infinitamente el que estuvieran presentes en mi vida y apoyándome en todo momento, y que tuvieran tantos sacrificios para conmigo, los amo profundamente.

“Hay que tener el miedo necesario para asumir el riesgo  
y el suficiente para que no merme tus fuerzas”

Mayor Oreja, Jaime

## Agradecimientos

A mi tutor el M. en C. Jesús Alberto Rojas Morales, sin usted y sus virtudes, su paciencia, constancia, sabiduría y apoyo no lo hubiera logrado tan fácil. Gracias por siempre brindarme el apoyo y poner ganas en que yo terminara este trabajo, sus consejos siempre fueron muy útiles para mí, me llevo un enorme aprendizaje de usted y de todo lo que logramos con este trabajo. Usted formó parte importante de este trabajo y gran parte de su conocimiento está plasmado en cada una de estas páginas. Muchas gracias por guiarme en cada paso y por todas sus orientaciones sus consejos fueron útiles cuando no tenía ideas para escribir lo que hoy he logrado, gracias por todo su aporte a esta tesis.

Por otra parte, agradezco a mi universidad y a la Facultad de Ciencias Químicas por brindarme todas las herramientas necesarias para mi aprendizaje, a mi director de tesis Dr. Alan Carrasco Carballo por ponerme a disposición su tiempo para solventar mis dudas, además de hacerme llegar toda la información de documentación, así como poner interés en concluir este proyecto. A mi codirector de tesis el Dr. Jorge Organista Nava por ser parte de este trabajo.

A la comisión revisora Dr. José Luis Vega Báez, M. en C. Itzel Paulina Morales Sandoval y al Dr. Victorino Alatraste Bueno por la mejora continua del trabajo presentado, además de haber formado parte importante de mi formación en las aulas y laboratorios.

A mis docentes que compartieron sus enseñanzas conmigo, que estuvieron ahí siempre para resolver todas mis dudas y que fueron parte importante de mi formación académica, siempre los llevaré conmigo y tendré presente todos sus conocimientos en mi vida.

A mis padres que siempre han sido el motor que impulsa mis sueños y esperanzas, a mi madre gracias por todo mamá no me alcanzará la vida para agradecerte.

A mis compañeros y amigos. Fátima Fernández que gracias a ti y tu apoyo logre realizar este trabajo, gracias por ser mi mejor amiga y siempre apoyarme en todo momento, cuando ya no quería continuar siempre estabas dándome ánimos, voy a estar eternamente agradecida contigo te amo y agradezco que estes en mi vida. Saúl Adán, Ingrid y Liz Bueno, por ser parte importante en todos estos años, gracias por siempre estar ahí y ser los mejores compañeros de universidad apoyándome en proyectos académicos como personales, los amo mucho.



El presente trabajo fue desarrollado bajo la dirección del Dr. Alan Carrasco Carballo y el M. C. Jesús Alberto Rojas Morales, en el Laboratorio de Elucidación y Síntesis en Química Orgánica, en colaboración con el Laboratorio de Biomedicina Molecular de la Facultad de Ciencias Químico-Biológicas de la Universidad Autónoma de Guerrero (FCQB-UAGro), en codirección del Dr. Jorge Organista Nava.

La investigación se realizó con financiamiento otorgado por Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), a través del Fondo FORDECYT-PRONACES 2020, (proyecto con clave CF 2019 1717349).



# Índice

<b>ÍNDICE</b> .....	<b>I</b>
<b>SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS</b> .....	<b>II</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	<b>III</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	<b>IV</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>V</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>VI</b>
<b>1 ANTECEDENTES</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1 Cáncer cervicouterino</b> .....	<b>3</b>
<b>1.2 Papel de CDK2 en cáncer cervicouterino</b> .....	<b>9</b>
<b>1.3 Tuberculosis</b> .....	<b>13</b>
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>21</b>
<b>2.1 Objetivo General</b> .....	<b>21</b>
<b>2.2 Objetivos particulares</b> .....	<b>21</b>
<b>3 METODOLOGÍA</b> .....	<b>22</b>
<b>3.1 Obtención de ligandos</b> .....	<b>22</b>
<b>3.2 Obtención de dianas</b> .....	<b>22</b>
<b>3.3 Docking molecular</b> .....	<b>22</b>
<b>3.4 Análisis de datos</b> .....	<b>23</b>
<b>4 DISCUSIÓN DE RESULTADOS</b> .....	<b>25</b>
<b>4.1 Cáncer cervical</b> .....	<b>26</b>
4.1.1 Pazopanib.....	29
4.1.2 Rucaparib.....	30
4.1.3 Enasidenib.....	31
4.1.4 Tipiracil.....	32
<b>4.2 <i>Mycobacterium tuberculosis</i></b> .....	<b>33</b>
4.2.1 Gonadorelina.....	36
4.2.2 Desvenlafaxina.....	37
4.2.3 Asenapina.....	38
4.2.4 Codeína .....	39
4.2.5 Mianserina.....	40
<b>5 CONCLUSIÓN</b> .....	<b>43</b>
<b>6 BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>44</b>

## Símbolos y abreviaturas

NIC: Neoplasia intraepitelial cervical

CaCU: Cáncer Cervicouterino

VPH: Virus del papiloma humano

VIH: Virus de inmunodeficiencia humana

OMS: Organización mundial de la salud

HVS-2: Virus herpes simple tipo 2

CDK: Quinasas dependientes de ciclina

CDK2: Quinasas dependientes de ciclina 2

Rb: Retinoblastoma

EA: Energía de Afinidad/Acoplamiento

RCC: Carcinoma de células renales

TB: Tuberculosis

LLC: Leucemia Linfocítica Crónica

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa

ELISA: Ensayo de inmunoadsorción ligado a enzima

TB-MR: Tuberculosis multirresistente

TB-XDR: Tuberculosis extremadamente resistente

TB-TR: Tuberculosis totalmente resistente

CYP: Citocromo P450

Mbt: *Mycobacterium tuberculosis*

EMB: Etambutol

CPCNP: Cáncer de pulmón de células no pequeñas

ADN: Ácido desoxirribonucleico

L: Criterios de Lipinski

G: Criterios de Ghose

V: Criterios de Veber

## Índice de Figuras

Figura 1. Estructura de talidomida y minoxidil respectivamente. Realizadas con ChemDraw. .1	1
Figura 2. Proceso de descubrimiento, desarrollo y aprobación de drogas (6).....2	2
Figura 3. Distribucion porcentual de la prevalencia de cáncer en mujeres a nivel mundial (18). .....3	3
Figura 4. Incidencia y mortalidad por cáncer de cuello uterino en América Latina (23). .....4	4
Figura 5. Numero estimado de casos y muertes de mujeres con cáncer en México en el año 2020 (26).....5	5
Figura 6. Evolución del cáncer cervicouterino (29). .....6	6
Figura 7. Esquema de los efectos del VPH en CDK y CIK (35).....7	7
Figura 8. Desregulación del ciclo celular por la acción de la proteína viral oncogénica E6 y E7 (39).....8	8
Figura 9. Diagrama representativo del efecto de CDK2 en la proliferación celular (51)..... 10	10
Figura 10. Estructura de la CDK2 unido a ATP (56). ..... 11	11
Figura 11. Estructura del AT7519, AG-024322 y Dinaciclib, inhibidores experimentales de CDK2 obetenidas de (57) y realizadas con ChemDraw. .... 12	12
Figura 12. Pacientes infectados por tuberculosis (60)..... 13	13
Figura 13. Países de America Latina con mayor número de casos de tuberculosis (66)..... 14	14
Figura 14. Campaña Fin a la Tuberculosis (67). ..... 15	15
Figura 15. Estructura de isoniazida (72) . Realizada con ChemDraw..... 16	16
Figura 16. Estructura de rifamicina (72) ..... 16	16
Figura 17. Estructura del etambutol (72). Realizada con ChemDraw..... 17	17
Figura 18. Estructura del ergosterol (realizada con ChemDraw) y de la lanosterol 14 $\alpha$ - desmetilasa (78)..... 17	17
Figura 19. Estructura del ketoconazol y posaconazol. Realizadas en ChemDraw..... 18	18
Figura 20. Conversión del lanosterol en 4,4-dimetilcolest-8(9), 14,24-trien-3 $\beta$ -ol, intermediario en la síntesis del ergosterol(84)..... 19	19
Figura 21. Estructuras del linezolid y PA 824 (nitroimidazopirano) respectivamente.Realizadas en ChemDraw..... 20	20
Figura 22. Estructura 3D de las dianas seleccionadas (56,78). ..... 22	22

Figura 23. Criterios de la regla de lipinski o regla de los 5. Imagen elaborada por los autores. .....	23
Figura 24. Criterios de la regla de Ghose. Imagen elaborada por los autores. ....	23
Figura 25. Criterios de la regla de Veber. Imagen elaborada por los autores. ....	24
Figura 26. Diagrama de metodología. ....	24
Figura 27. Resumen gráfico de reposicionamiento de fármacos. Imagen elaborada por los autores.....	25
Figura 28. Energía de acoplamiento de los mejores derivados en CDK2 y fármaco de referencia. .....	27
Figura 29. Comparación de las estructuras seleccionadas en el reposicionamiento de fármacos de cáncer cervical. Realizadas con ChemDraw.....	28
Figura 30. Estructura del pazopanib y superposición en CDK2.....	29
Figura 31. Estructura del rucaparib y superposición en CDK2.....	30
Figura 32. Estructura del enasidenib y superposición en CDK2.....	31
Figura 33. Estructura del tipiracil y superposición en CDK2.....	32
Figura 34. Energía de acoplamiento de los mejores derivados en CYP51 y fármaco de referencia. .....	34
Figura 35. Comparación de estructuras seleccionadas en el reposicionamiento de fármacos en tuberculosis. Realizada con ChemDraw.....	35
Figura 36. Estructura de la gonadorelina y superposición en CYP51.....	36
Figura 37. Estructura de la desvenlafaxina y superposición en CYP51.....	37
Figura 38. Estructura de la asenapina y superposición en CYP51. ....	38
Figura 39. Estructura de la codeína y superposición en CYP51. ....	39
Figura 40. Estructura de la mianserina y superposición en CYP51. ....	40

## Índice de Tablas

Tabla 1. Codigos ATC de los fármacos seleccionados contra CDK2. ....	27
Tabla 2. Codigos ATC de los fármacos seleccionados contra CYP51.....	34
Tabla 3. Moléculas seleccionados para reposicionamiento de fármacos. ....	41



## Resumen

El reposicionamiento de fármacos es una herramienta muy importante para el diseño de nuevas alternativas de tratamiento contra enfermedades de alto impacto en la sociedad moderna, además de que suponen un ahorro económico y de tiempo. Bajo esta premisa, se trabajó con una base de datos de fármacos obtenidos de DrugBank, y por medio de herramientas bioinformáticas se analizaron las posibles interacciones de esas moléculas con las dianas CDK2 y CYP51 asociadas al cáncer cervicouterino y tuberculosis respectivamente. Para analizar y seleccionar posibles candidatos a reposicionamiento se utilizó como criterio su energía de acoplamiento proteína-ligando y criterios farmacocinéticos según Lipinski, Ghose y Veber, así como aquellos reportes de farmacovigilancia con menores efectos secundarios presentados o de menor gravedad.

Para CDK2 se obtuvieron como moléculas idóneas el pazopanib, rucaparib, enasidenib y por último el tipiracil los cuales pueden ser ideales para reenfoarlos como tratamiento, ya que estos fármacos tienen una potencial inhibición en contra de ciertos tipos de cánceres, por otra parte, no presentan efectos secundarios graves, además de poseer una energía de acoplamiento alta, incluso por encima del fármaco de referencia que es el flavopiridol tratamiento actual del cáncer cervical dirigido a esta diana.

En el caso de *M. tuberculosis* los fármacos con mayor acoplamiento son asenapina y mianserina, por lo que estos son idóneos para reposicionarlos y así poder obtener nuevos inhibidores de CYP51. Estos fármacos además de poseer una energía de afinidad más alta que el fármaco de referencia ketoconazol, fluconazol y miconazol, poseen pocos efectos adversos, y son moléculas con un peso molecular adecuado para administración vía oral, cumplen también con los criterios farmacocinéticos de Lipinski, Ghose y Veber, de modo que los fármacos asenapina y mianserina pueden llegar a ser tratamientos innovadores y eficientes en contra de *M. tuberculosis* y la diana CYP51.

**Palabras clave:** Reposicionamiento de fármacos, Cáncer cervical, *Mycobacterium tuberculosis*, CYP51, CDK2.

## Abstract

The repositioning of drugs is a particularly important tool for the design of new treatment alternatives against high-impact diseases in modern society, in addition to saving money and time. Under this premise, we worked with a database of drugs obtained from DrugBank, and by means of bioinformatic tools the possible interactions of these molecules with the CDK2 and CYP51 targets associated with cervical cancer and tuberculosis, respectively, were analyzed. To analyze and select candidates for repositioning, their protein-ligand coupling energy and pharmacokinetic criteria according to Lipinski, Ghose and Veber were used as criteria, as well as those pharmacovigilance reports with fewer or less serious side effects.

Pazopanib, rucaparib, enasidenib and finally tipiracil were obtained as suitable molecules for CDK2, which may be ideal for refocusing them as treatment, since these drugs have a potential inhibition against certain types of cancer, on the other hand, they do not present serious side effects, in addition to having a high coupling energy, even above the reference drug that is flavopiridol, current treatment of cervical cancer directed at this target.

In the case of *M. tuberculosis*, the drugs with the greatest coupling are asenapine and mianserin, so these are ideal for repositioning them and thus being able to obtain new CYP51 inhibitors. These drugs, in addition to having a higher affinity energy than the reference drug ketoconazole, fluconazole and miconazole, have few adverse effects, and are molecules with an adequate molecular weight for oral administration, they also meet the pharmacokinetic criteria of Lipinski, Ghose and Veber, so that the drugs asenapine and mianserin can become innovative and efficient treatments against *M. tuberculosis* and the CYP51 target.

**Keywords:** Drug repositioning, Cervical cancer, *Mycobacterium tuberculosis*, CYP51, CDK2.

## 1 Antecedentes

El reposicionamiento de fármacos (también denominado replicación o reperfilado de fármacos) se define generalmente como la utilización de fármacos para su aplicación con nuevas indicaciones diferentes a las originales de las cuales se diseñaron, es decir, obtener nuevas alternativas de tratamiento a partir de fármacos existentes con patologías diferentes a las cuales fueron diseñadas (1). Se ha perfilado recientemente como una de las formas más importante de obtención de moléculas bioactivas, tanto que, aproximadamente el 30% de los fármacos y vacunas aprobados por la FDA (Food and Drug Administration) han sido por reposicionamiento (2). Ejemplo de ello destacan la talidomida (Figura 1), comercializada inicialmente como antiemético para embarazadas y que, tras ser retirada, volvió a comercializarse como tratamiento de la lepra y el mieloma múltiple (3). Otro caso conocido es el minoxidil (Figura 1). Este compuesto fue aprobado inicialmente para tratar la hipertensión y, un tiempo después, salió al mercado como tratamiento contra la caída del cabello (4).

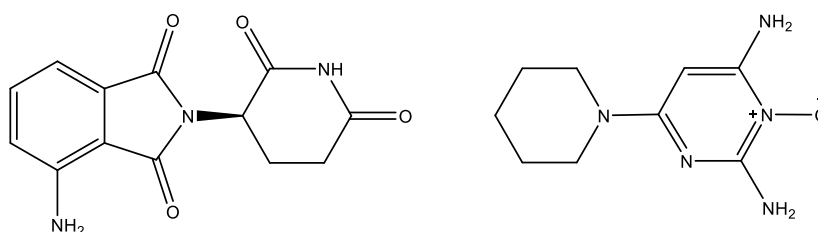


Figura 1. Estructura de talidomida y minoxidil respectivamente. Realizadas con ChemDraw.

Esta técnica permite usar moléculas ya estudiadas, aprobadas o retiradas para orientarlas hacia otras indicaciones terapéuticas; esto tiene una gran ventaja ya que al utilizar fármacos que han sido evaluados previamente, ya se tiene información con respecto a su seguridad en pruebas realizadas en la fase 1 de su investigación (5,6) aprovechando los datos de seguridad y farmacocinética previamente obtenidos (7). Normalmente, los fármacos que entran en la fase I de los ensayos clínicos, sólo se aprueba el 10%, y el resto fracasa por su elevada toxicidad o ineficacia (2), ahorrando no sólo recursos, sino que se pueden minimizar riesgos toxicológicos.

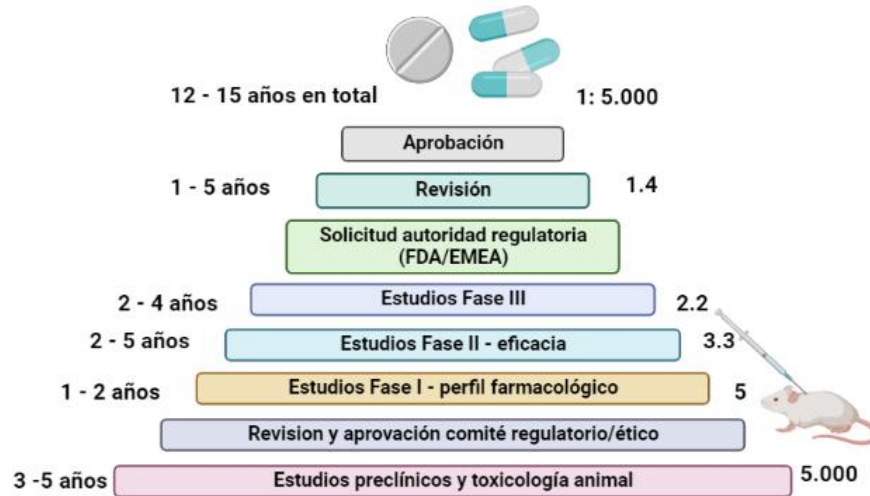


Figura 2. Proceso de descubrimiento, desarrollo y aprobación de drogas (6).

Al no tener que realizar las primeras etapas del desarrollo de fármacos hace que el proceso de reposicionamiento se complete en un tiempo inferior en comparación con los fármacos obtenidos por síntesis o diseño *de novo*. Se puede reducir el tiempo de desarrollo de los 13-15 años (Figura 2) que habría que invertir para obtener un fármaco por métodos convencionales hasta los 6,5 años, de media, necesarios en aquellos reposicionados (8). Todo esto supone un gran ahorro económico, desde la cantidad de unos 1-2 mil millones de dólares que suele requerir la aprobación y creación de un fármaco por la FDA a unos 300 millones de dólares que suele necesitarse para hacerlo a través del reposicionamiento (1).

Siendo de interés en particular el cáncer cervicouterino (CaCU) y la infección bacteriana por tuberculosis, dado que, mediante la identificación de los efectos antineoplásicos de un fármaco y el estudio de sus vías moleculares específicas, es posible encontrar candidatos prometedores para la reutilización de fármacos para la terapia contra el cáncer (9). Con frecuencia, un medicamento reutilizado también puede tener mecanismos moleculares desconocidos que interactúan con cualquier vía que esté involucrada en las características del cáncer, los llamados efectos "fuera del objetivo" de los agentes terapéuticos, que puede resultar en efectos antitumorales inesperados (10,11). Otra forma de encontrar candidatos prometedores para la reutilización de fármacos es estudiar su modulación de la expresión génica asociada con un perfil de cáncer específico. A veces, los genes pueden estar regulados hacia arriba o hacia abajo en algunos tipos de cáncer y los medicamentos que pueden influir en su expresión pueden ser útiles para el tratamiento oncológico (12,13).

A pesar de que el tratamiento para *Mycobacterium tuberculosis* es conocido hace casi 50 años, este ha tenido el problema de presentar patrones de resistencia a antibióticos desde el inicio debido a regímenes de tratamiento no adecuados (14). La aparición de cepas resistentes crea la necesidad de buscar métodos rápidos de diagnóstico para poder iniciar un tratamiento personalizado, reduciendo así las posibilidades de fracaso y/o recaída, además de evitar su propagación en la comunidad (15).

## 1.1 Cáncer cervicouterino

El cáncer representa uno de los más grandes retos para la sociedad contemporánea; y el de cuello uterino (CaCU) representa el segundo cáncer con mayor incidencia en la mujer a nivel mundial. Lo cual ha provocado un gran impacto en todas las esferas sociales contribuyendo a las altas tasas de morbilidad y mortalidad en el mundo entero, el CaCU ocupa el segundo lugar entre las primeras diez causas de muerte, precedido únicamente por enfermedades cardiovasculares y es la primera causa de años de vida potenciales perdidos (AVPP) en el país (16). La Organización Mundial de la Salud (OMS) calcula que cada año se diagnostican 500 000 nuevos casos de CaCU y mueren más de 55 000 mujeres, y que, de estas, el 80 % proceden de países subdesarrollados (17).

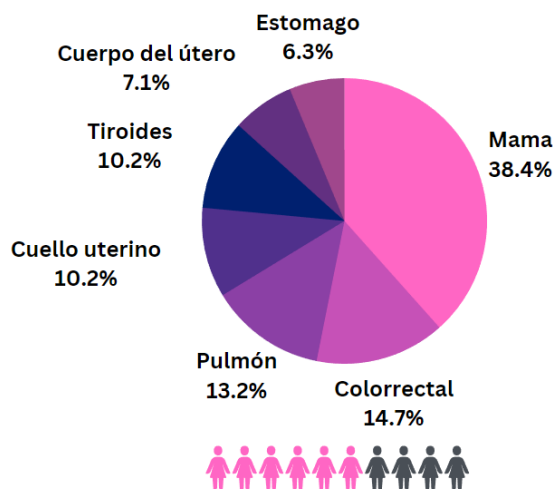


Figura 3. Distribución porcentual de la prevalencia de cáncer en mujeres a nivel mundial (18).

Su incidencia ha crecido a niveles alarmantes (Figura 3), especialmente en países subdesarrollados. A pesar de que muchos países tienen implementado un programa de detección precoz del cáncer cervicouterino (DPCCU), esta acción no es suficiente, ya que la cobertura

sigue siendo muy baja sobre todo en aquellos países donde el nivel educacional es bajo y se ofrece una pobre difusión a este problema de salud (19)

El CaCU es el cuarto cáncer más común entre las mujeres, con 570 000 casos nuevos en 2018 y 265 672 muertes a causa de esta enfermedad en todo el mundo (20). Las estimaciones de 2018 en América Latina y el Caribe describen 56 000 nuevos casos de CaCU, que contribuyen con el 20.1 % del número mundial de casos nuevos, y 28 000 muertes por cáncer de cuello uterino, lo que representa el 9.0 % del total mundial de muertes por cáncer de cuello uterino (Figura 4) (21). En general, el CaCU representa el segundo o tercer cáncer más común en las mujeres del Caribe, América Central y América del Sur, con una tasa de incidencia media de 15 en 100 000 (rango 7.6 a 38.5 en 100 000). Hay una tendencia hacia la mejora de la detección y prevención del cáncer cervicouterino en la región (22).

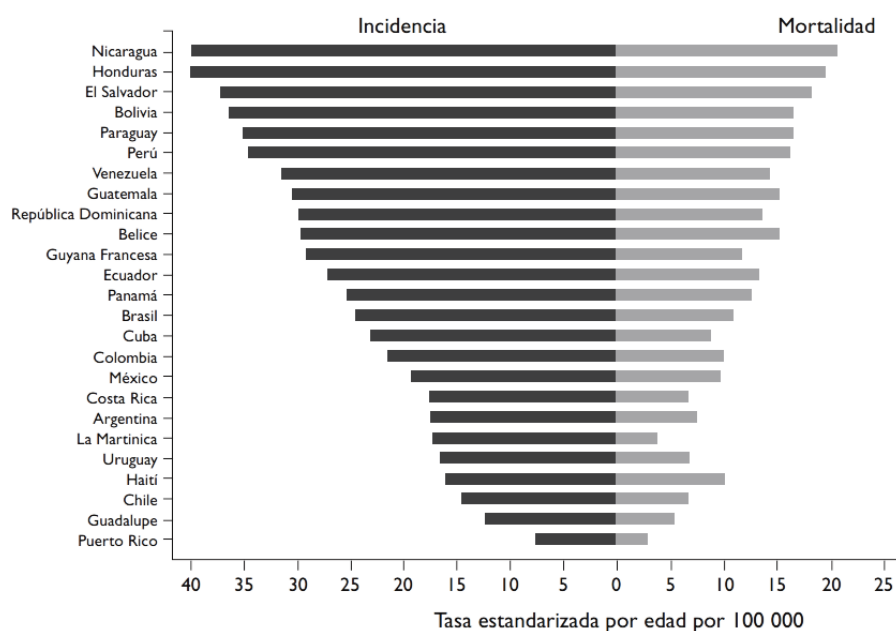
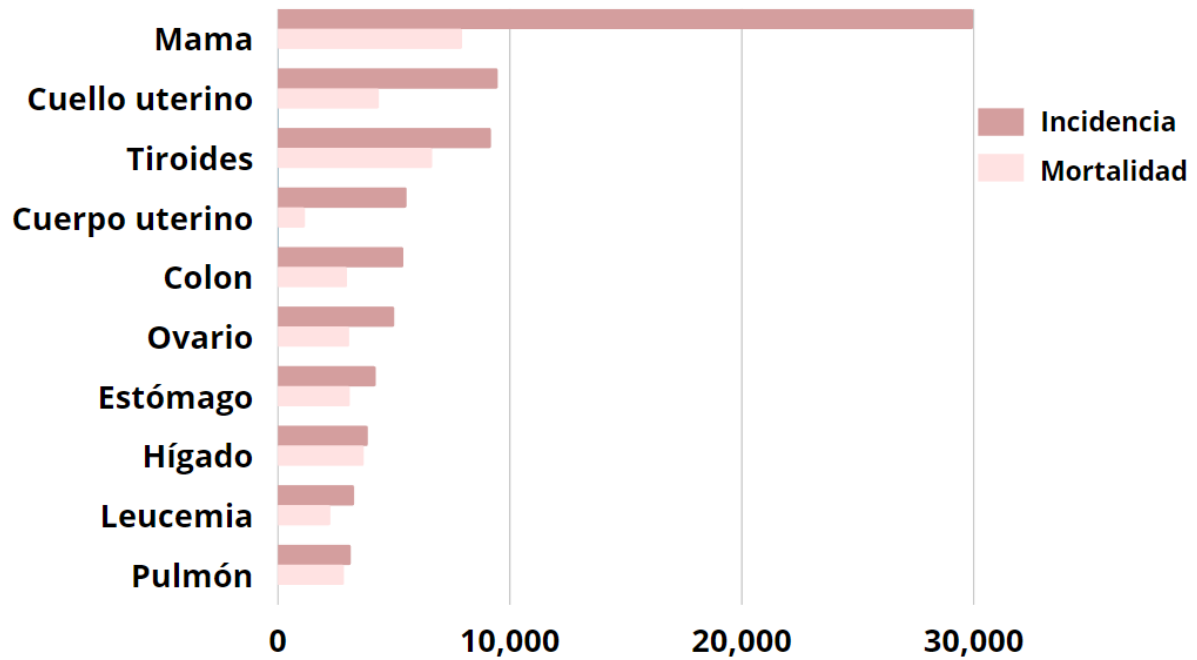


Figura 4. Incidencia y mortalidad por cáncer de cuello uterino en América Latina (23).

En el año 2020, se estimaron 9 439 casos nuevos y 4 335 defunciones por CaCU en México, el cual es uno de los países de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE) que presenta mayor mortalidad por esta neoplasia (Figura 5) (24). El CaCU ocupa el segundo lugar en frecuencia de morbilidad por neoplasias malignas en la mujer, después del cáncer de mama (2.72 por cada 100 mujeres), a diferencia de las mujeres hispanas residentes en Estados Unidos, donde el CaCU ocupa el séptimo lugar de las neoplasias (25).

## Número estimado de casos y muertes de mujeres con cáncer en México durante el año 2020.



Data source: GLOBOCAN 2020  
 Graph production: Global cancer observatory (<http://gco.iarc.fr/>)  
 International Agency for Research on Cancer 2022

International Agency for Research on Cancer  
 World Health Organization

Figura 5. Número estimado de casos y muertes de mujeres con cáncer en México en el año 2020 (26)

El CaCU se origina a partir de alteraciones celulares provocadas en el epitelio del cuello del útero y se manifiesta inicialmente a través de lesiones precursoras de lenta y progresiva evolución, que suceden en etapas de displasia leve, moderada y severa (Figura 6), que finalmente pueden evolucionar a cáncer *in situ* (17). Los cambios premalignos cervicales representan un espectro de anormalidades histológicas que van desde un NIC 1 (Neoplasia Intraepitelial Cervical grado 1 o displasia leve), NIC 2 (Neoplasia Intraepitelial Cervical grado 2 o displasia moderada) y NIC 3 ( Neoplasia Intraepitelial Cervical grado 3 o displasia severa/carcinoma *in situ*) hasta cáncer invasivo (Figura 6) (27,28).

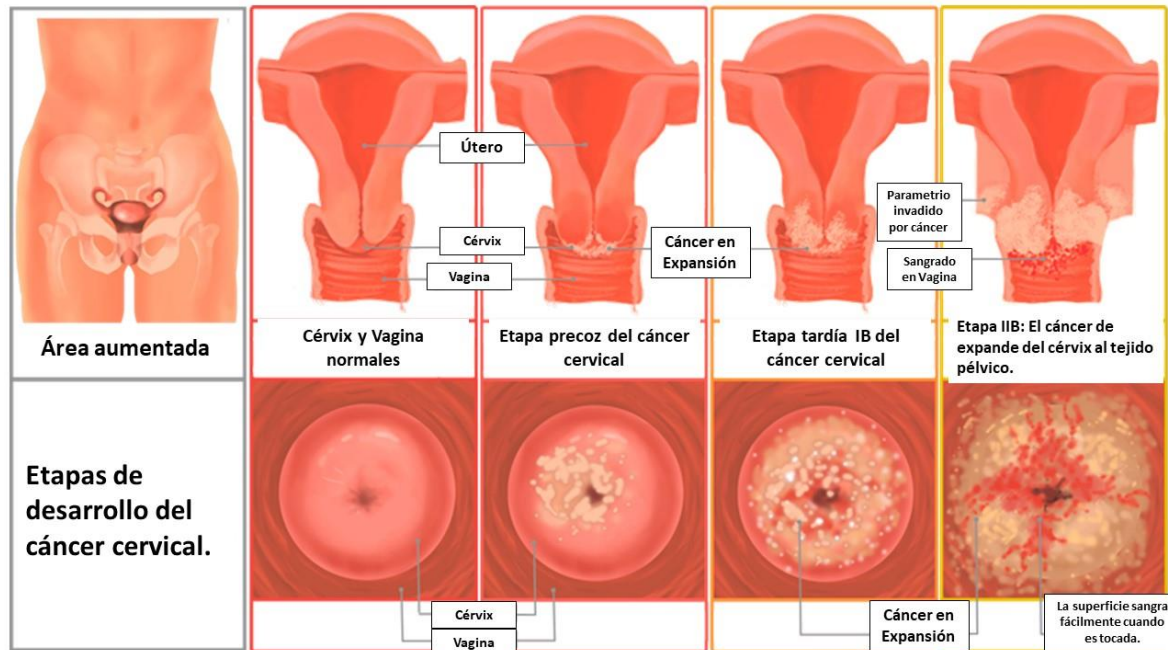


Figura 6. Evolución del cáncer cervicouterino (29).

Los factores de riesgo asociados al desarrollo del CaCU pueden incluir la infección por el virus del papiloma humano (VPH-AR), primer parto a edad temprana, tabaquismo, virus de inmunodeficiencia humana (VIH), deficiencia inmunológica, enfermedades de transmisión sexual, uso de anticonceptivos orales por más de cinco años, dietas poco saludables y la inactividad física son algunos de los factores que han ocasionado un aumento de esta enfermedad (30).

La infección por el VPH-AR es una de las principales causas para el desarrollo del CaCU, ya que el proceso patogénico comienza con la asociación entre las proteínas E6 y E7 del VPH con las proteínas reguladoras del ciclo celular que ha quedado bien establecida que modifica al gen (p63) y por lo tanto puede desencadenar una desregulación que llevan a la proliferación descontrolada, el tratamiento de las células TC-1, que expresan las proteínas E6 y E7 del VPH (31). La fase tardía del ciclo de vida del VPH está vinculada a la diferenciación epitelial, un regulador potencial es p63, un miembro de la familia de proteínas p53, que modula el desarrollo epitelial, así como la capacidad de proliferación, en las células madre (32). Esto sugiere que p63 y p73 pueden unirse y activar genes sensibles a p53 e influir en eventos celulares, incluida la regulación del ciclo celular y la apoptosis, además la eliminación de p63



resultó en una pérdida de la expresión génica tardía del VPH dependiente de la diferenciación y la amplificación del genoma, identificando así un importante regulador celular del ciclo de vida del VPH (33).

Los resultados del análisis preciso también mostraron que la reducción de la expresión de p63 en la diferenciación de queratinocitos positivos para VPH31 disminuyó la expresión de ciclinas A, B y E, así como *cdc25c*, CDK1 y CDK2 (32). Además, los altos niveles de ciclina B1 y CDK1 citoplásmica en queratinocitos positivos para VPH18 pueden inducir la detención del ciclo celular G2/M (34). También se ha demostrado que la proteína E7 puede aumentar el nivel de expresión de CDK2 al interactuar con la ciclina A, la ciclina E y la fosfatasa *cdc25a* (35) (Figura 7).

Muchos tipos de virus del papiloma humano (VPH) están asociados con el CaCU. Por lo tanto, el genotipado del VPH tiene importancia tanto clínica como epidemiológica. Los VPH 16 y 18 son dos tipos principales de alto riesgo responsables de más del 70 % de todos los casos de CaCU (36).

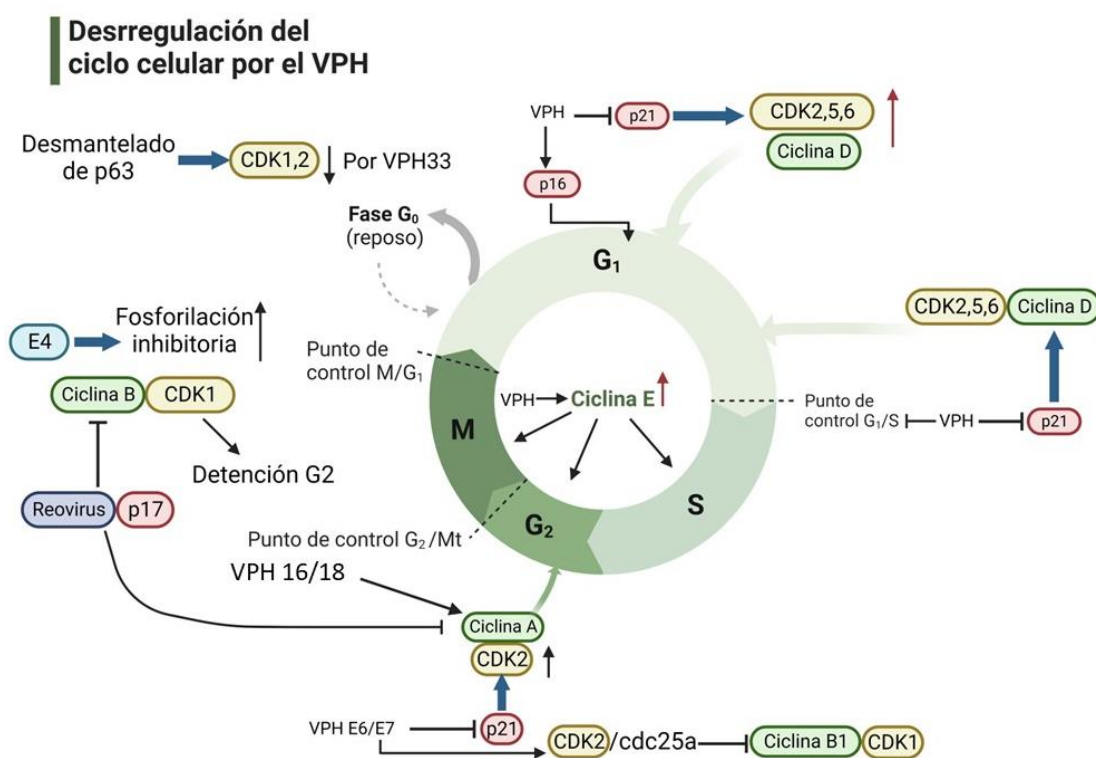


Figura 7. Esquema de los efectos del VPH en CDK y CIK (35).

Las coinfecciones del VPH con otros agentes infecciosos de transmisión sexual, como *Chlamydia trachomatis*, el virus herpes simple tipo 2 (HVS-2) y el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) posiblemente condicionen un efecto sinérgico que aumente las posibilidades de alteraciones celulares que conducen al desarrollo de una neoplasia. La infección por *Chlamydia trachomatis* y el HVS-2 favorecen la entrada y persistencia de múltiples tipos de VPHs, lo cual conduce a integración viral, inhibición de apoptosis, sobreexpresión de oncogenes E6/E7 y transformación celular (25).

La primera indicación del papel de E6 y E7 en la carcinogénesis provino del análisis de células derivadas de cáncer de cuello uterino, por ejemplo, SiHa y CaSki, en el que se encontró ADN viral integrado aleatoriamente en el genoma del huésped (37). También se demostró que la integración del ADN viral resultó en la interrupción de varios genes virales con la preservación de solo E6 y E7, que se transcribieron activamente (38).

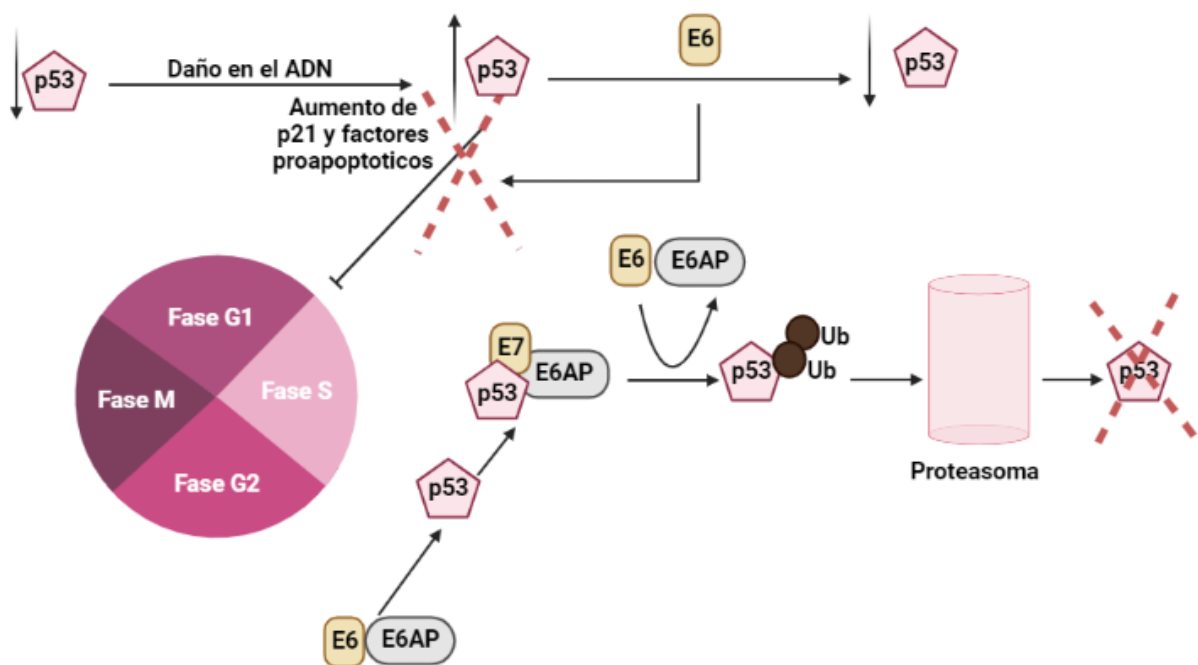


Figura 8. Desregulación del ciclo celular por la acción de la proteína viral oncogénica E6 y E7 (39).

Los genomas de VPH-AR codifican dos proteínas, E6 y E7, que interfieren con importantes mecanismos de control celular del ciclo celular, la apoptosis y el mantenimiento de la estabilidad cromosómica (40). Los efectos de E6 y E7 sobre p53 y pRB (Figura 8), así como sobre muchas otras proteínas celulares, han sido ampliamente investigados en el pasado y alteraciones significativas de la regulación del ciclo celular podrían atribuirse a la interacción

bioquímica de los dos oncogenes virales con sus respectivos genes (41,42). La expresión desregulada de los genes E6 y E7 del VPH en las células madre epiteliales conduce a una gran inestabilidad cromosómica en las primeras etapas de la displasia. Esta inestabilidad se manifiesta en aberraciones numéricas del centrosoma, puentes de anafase y roturas cromosómicas que con el tiempo dan como resultado aneuploidía (43,44).

Aunque la vacuna contra el VPH, el tamizaje (pruebas para CaCU) y la prevención ayudan a reducir la tasa de infección de cáncer cervicouterino, aún persiste una alta incidencia de este cáncer en la sociedad (45). Los tratamientos quirúrgicos combinados con quimioterapia o radioterapia han mejorado el resultado de supervivencia de los pacientes con CaCU, pero el efecto del tratamiento en pacientes de alto riesgo sigue siendo pobre (46). Los estudios de inmunoterapia también han proporcionado un nuevo tratamiento potencial de CaCU. Además, la tasa de mortalidad de las pacientes ha seguido en aumento debido a que dicha neoplasia es propensa a la metástasis y la recurrencia (47). Por esta razón, la exploración de nuevos métodos de diagnóstico y tratamiento temprano para CaCU es de extraordinaria importancia para salvar la vida de las mujeres (48).

## 1.2 Papel de CDK2 en cáncer cervicouterino

Las quinasas dependientes de ciclina (CDK) juegan un papel importante en la regulación del ciclo celular eucariota y en la transcripción (49). Durante la fase G1, la CDK2 unida a la ciclina E media la fosforilación de la proteína supresora de tumores retinoblastoma (Rb), lo que resulta en la activación de los miembros de la familia de factores de transcripción E2F, ayudando así a la entrada en la fase S (49,50). Tras la degradación de la ciclina E durante la fase G1 tardía, la CDK2 se empareja con la ciclina A para fosforilar e inactivar el E2F, dando lugar a la progresión de la fase S. La desregulación del ciclo celular es una característica de la mayoría de los tumores humanos, que se produce con frecuencia por la alteración del circuito de señalización de Rb. El control aberrante de la actividad de las CDK se ha directamente relacionado con el desarrollo del cáncer (50).

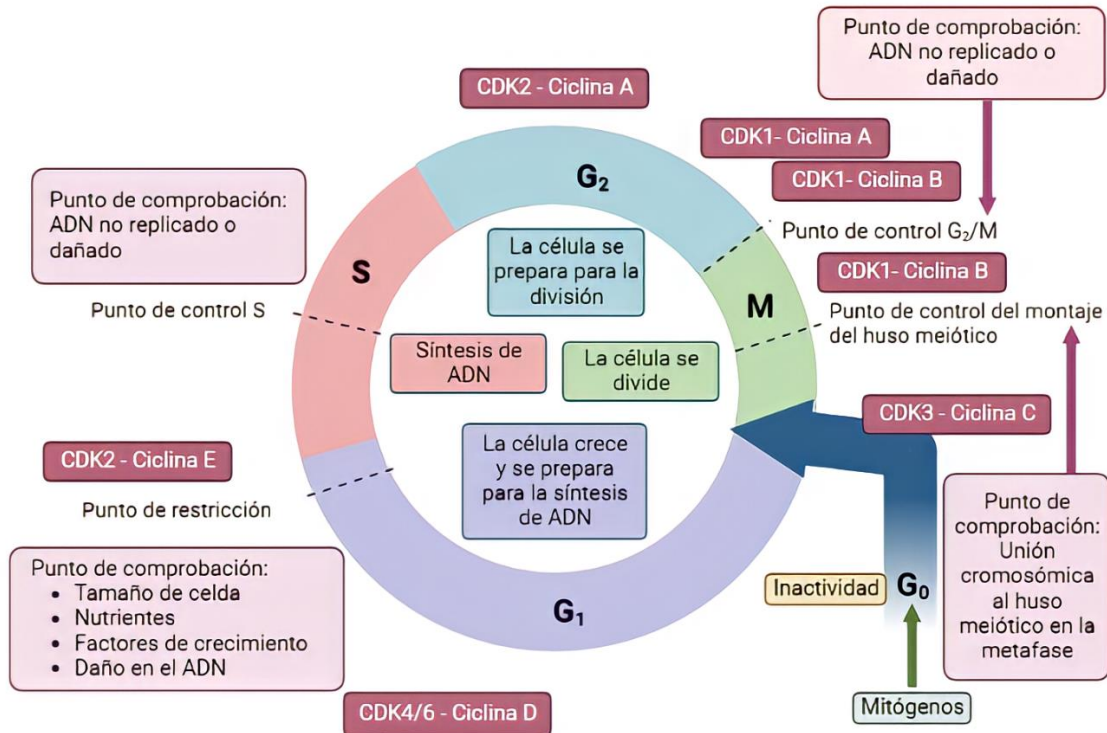


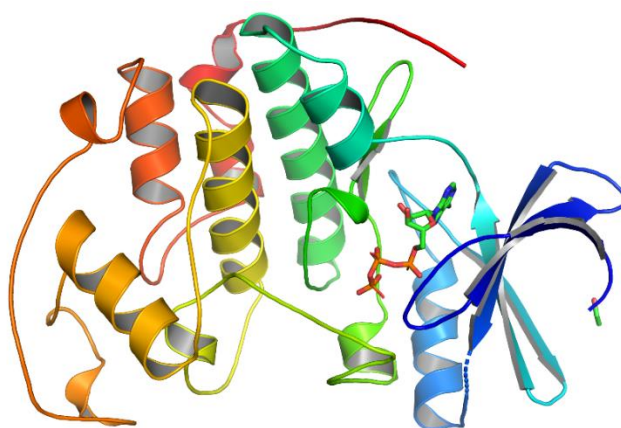
Figura 9. Diagrama representativo del efecto de CDK2 en la proliferación celular (51).

Las CDK permanecen inactivas hasta que se asocian con una subunidad reguladora una ciclina, y posteriormente se fosforilan en su segmento de “activación” Thr160; p53 inhibe indirectamente la acción del complejo ciclina/CDK2, impidiendo la proliferación celular. Cuando p53 está ausente o dañado, el complejo ciclina/CDK2 se activa y la célula puede proliferar y provocar cáncer, (Figura 9) en donde la activación aberrante de CDK2, común en muchos cánceres humanos conduce a una proliferación celular descontrolada durante la oncogénesis (52). Asimismo, los procesos oncogénicos de varios cánceres también se han asociado con niveles altos de las dos subunidades reguladoras de CDK2, las ciclinas A y E; en conjunto, tanto la actividad de CDK2 como la de sus subunidades reguladoras representan componentes importantes de la oncogénesis (53).

El gen de la cinasa 2 dependiente de ciclina (CDK2), ubicado en el cromosoma 12q13.2, consta de ocho exones (31). Aparte existen estudios en donde se han asociado vías de señalización relacionadas con CDK2 que conferirían funciones complicadas en varias formas de cáncer (54), algunos estudios han investigado el papel promotor de tumores de CDK2 en cáncer cervical (48).

El estudio de los inhibidores de CDK2 también proporcionó nuevas perspectivas para el tratamiento del cáncer (51,55). Diversos estudios mostraron que la inhibición de CDK2 suprimió significativamente el crecimiento de las células de CaCU y la progresión del ciclo celular, así como la adhesión de la matriz celular. De acuerdo con estudios previos, los hallazgos indicaron que CDK2 podría ser un objetivo terapéutico valioso para el tratamiento de CaCU (48).

Estructuralmente hablando, CDK2 es similar a otras proteínas quinasas con una arquitectura bilobal clásica, un lóbulo N-terminal (residuos 1-82) y el dominio C-terminal (residuos 83-297) (Figura 10). El lóbulo N-terminal más pequeño está formado principalmente por láminas  $\beta$  (cinco hebras  $\beta$  antiparalelas) con una hélice  $\alpha$ C que contiene la secuencia Pro-Ser-Thr-Ala-Ile-Arg-Glu (PSTAIRE) y es esencial para la unión de ciclinas (51).



*Figura 10. Estructura de la CDK2 unido a ATP (56).*

Uno de los principales desafíos en el descubrimiento de fármacos dirigido por CDK2 es la selectividad, el desarrollo de inhibidores de CDK2 (Figura 11) altamente selectivos es importante para minimizar la toxicidad del fármaco y establecer un mecanismo de acción. El éxito de las terapias dirigidas a CDK2 dependerá del desarrollo de compuestos potentes y selectivos con propiedades farmacocinéticas favorables y de la identificación de determinantes de la sensibilidad tumoral (biomarcadores predictivos) a la inhibición de CDK2 para identificar los subgrupos de pacientes que responden (51).

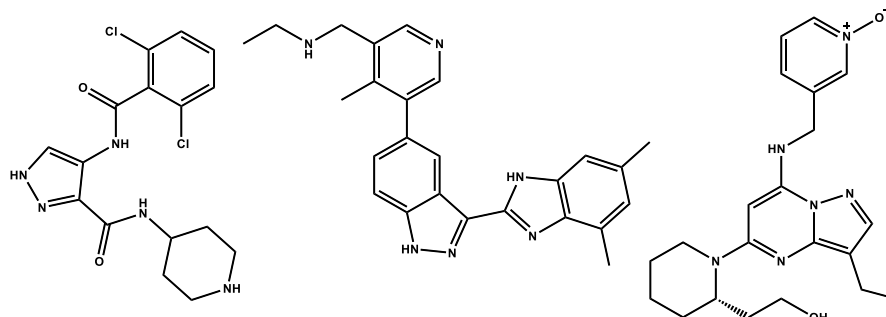


Figura 11. Estructura del AT7519, AG-024322 y Dinaciclib, inhibidores experimentales de CDK2 obtenidas de (57) y realizadas con ChemDraw.

Hasta el momento no se han establecido tratamientos dirigidos hacia la quinasa CDK2 debido a que la importancia de CDK2 como una diana anticancerígena aún está en proceso de ser establecida, ya que cuando se remueve el gen de CDK2 completamente en ratones estos aún sobreviven, y cuando la expresión del gen de CDK2 es reducido no se consigue la interrupción del ciclo celular en líneas celulares cancerígenas (57).

Sin embargo, también se ha establecido el papel de esta enzima a nivel multidiana, ya que la inhibición de esta enzima en líneas celulares sí lleva a la reducción en la proliferación. Dado que los inhibidores de CDK2 actualmente disponibles no son selectivos, las respuestas fenotípicas (tanto a nivel celular como del organismo) están definidas por todos los objetivos de activación y desactivación. Sin embargo, uno de los principales desafíos en el descubrimiento de fármacos dirigido por CDK2 es la selectividad (58). El desarrollo de inhibidores de CDK2 altamente selectivos es importante para reducir los potenciales efectos tóxicos de fármacos, por tanto, el éxito de las terapias dirigidas a CDK2 dependerá del desarrollo de compuestos selectivos y potentes con propiedades farmacocinéticas favorables a la inhibición de CDK2 (51).

La falta de interés hacia la diana CDK2 debido a que no hay inhibidores selectivos resulta en un enorme potencial para su investigación, además de buscar nuevas moléculas para el tratamiento de CaCU podría resultar en años de investigación, así como una inversión multimillonaria; es así como el reposicionamiento de fármacos surge como una alternativa ideal para la búsqueda de moléculas existentes en contra de proteínas de interés como CDK2 la cual podría ser utilizada como un blanco terapéutico en CaCU.

### 1.3 Tuberculosis

La relación entre la tuberculosis y el hombre precede a la historia escrita, fue descubierta en momias pertenecientes a la predinastía egipcia (3500- 2650 A. C.) y en restos humanos ubicados en Suecia e Italia que datan del período Neolítico (59). Hipócrates en el siglo V A. C. utilizó la palabra “tisis” que quiere decir “consunción, deterioro físico progresivo”, y describe “la *fascie* hipocrática”, “el temperamento héctico” y la fiebre vespertina o “fiebre héctica” marcándola en la historia como la enfermedad "más grave de todas, la de curación más difícil y la más fatal" (59). En Europa, durante los siglos XVII y XVIII, una de cada cuatro muertes se asoció a esta enfermedad, siendo en el siglo XIX la primera causa de mortalidad en los Estados Unidos (Figura 12) (60).



Figura 12. Pacientes infectados por tuberculosis (60).

Muchos avances de la ciencia y la medicina se hacen evidentes al revisar la historia de esta enfermedad. El médico inglés Benjamín Marten en 1720 hace la primera conjetura de que la tuberculosis podría ser causada por "criaturas vivientes diminutas"; posteriormente el médico francés Jean-Antoine Villamin demostró que la enfermedad podía pasar de humanos al ganado y de estos a conejos, y postuló un microorganismo específico como causa de la enfermedad (61). El aislamiento del *Mycobacterium tuberculosis* es el principal método de diagnóstico, aunque también se utilizan otros métodos diagnósticos como la radiología, PCR, ELISA, la reacción de tuberculina, la historia clínica y otros que apoyan en el diagnóstico. Sin embargo, debe confirmarse con la demostración de la presencia de la bacteria (62). A pesar de

las herramientas de diagnóstico, el avance en la detección, tratamientos y estrategias de prevención la TB sigue representando un grave problema de salud (63).

Entre las principales amenazas para el cumplimiento de erradicar la tuberculosis destaca el surgimiento de bacterias resistentes a los fármacos. La pandemia de COVID-19 continúa teniendo un impacto perjudicial en el acceso al diagnóstico y tratamiento de la TB y la carga de la enfermedad de TB. El impacto más obvio e inmediato fue una gran caída global en el número informado de personas recién diagnosticadas con TB. De un máximo de 7.1 millones en 2019, cayó a 5.8 millones en 2020 (-18 %), de vuelta al nivel visto por última vez en 2012. En 2021, hubo una recuperación parcial, a 6.4 millones (el nivel de 2016-2017 ). La tasa de incidencia de TB (nuevos casos por 100 000 habitantes por año) aumentó un 3.6% entre 2020 y 2021, revertiendo las caídas de alrededor del 2.0 % por año durante la mayor parte de las 2 décadas anteriores (64).

La tuberculosis constituye uno de los principales problemas de salud en el mundo debido a que se presentan cerca de 10,4 millones de infecciones nuevas (tan solo en 2020) ubicándose dentro de las primeras diez causas de mortalidad entre las enfermedades infecciosas y fue la primera causa de muerte durante el año 2015, incluso por encima del VIH dentro de esta categoría (65). A esto se suma la aparición de tuberculosis multirresistente (TB-MR), tuberculosis extremadamente resistente (TB-XDR) y tuberculosis totalmente resistente a los medicamentos (TB-TR) (65). En Latinoamérica y el Caribe (Figura 13), se estima que dicha incidencia para el año 2016, fue de 41 casos por 100 mil habitantes. Además, la tuberculosis se encuentra dentro de las 10 primeras causas de mortalidad a nivel mundial (66).

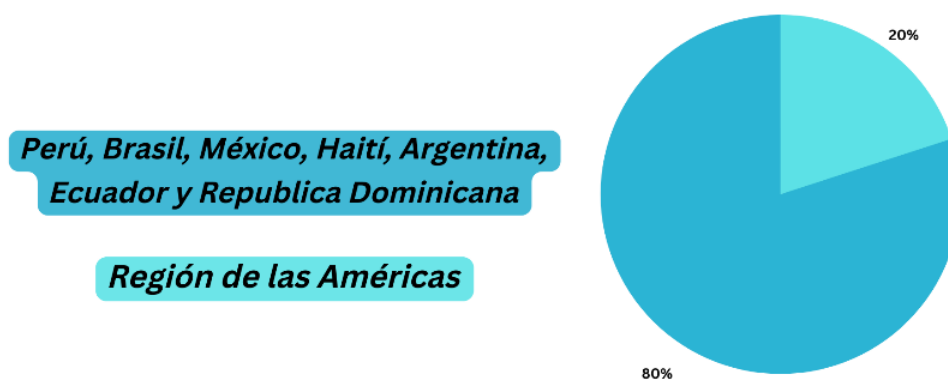


Figura 13. Países de América Latina con mayor número de casos de tuberculosis (66).



Teniendo en cuenta lo anterior, la Organización Mundial de la Salud ha diseñado diversas acciones dirigidas a controlar la enfermedad, entre las cuales se destacan la estrategia “Fin a la Tuberculosis” (Figura 14), que busca reducir la incidencia en un 90% y el número de muertes en un 95% entre el año 2015 y el 2035, mejorando el diagnóstico temprano y el tratamiento oportuno (65).



Figura 14. Campaña Fin a la Tuberculosis (67).

*M. tuberculosis* ha representado una creciente causa de muerte en todo el mundo (68).

Hay dos razones principales que subyacen a este resurgimiento:

1. La primera gira en torno al aumento en las infecciones de VIH SIDA en todo el mundo y la capacidad de *M. tuberculosis* para prosperar en personas inmunodeprimidas.
2. El segundo es el preocupante desarrollo de resistencia a los antibióticos en *M. tuberculosis* que se ha producido en las últimas décadas, con cepas resistentes a todos los antibióticos de primera línea y de segunda elección (69).

Una de las prioridades actuales de la Organización Mundial de la Salud son las bacterias multirresistentes, dado que constituyen un problema en todo el mundo por su rápida diseminación, así como por la dificultad de su tratamiento. Además, se asocian a una alta morbilidad y mortalidad (70). El problema de la resistencia tiene un impacto inmediato en la actividad del laboratorio de microbiología clínica, donde se lleva a cabo la detección del problema (71).

En cuanto a los fármacos más utilizados para la tuberculosis, y que representan una resistencia se describen a continuación:

La isoniazida (INH) (Figura 15) es el antibiótico más utilizado contra la tuberculosis (anti-TB)(72). En los últimos años se ha avanzado mucho en la base molecular de la resistencia a la INH como mutaciones en los genes de *katG*, *inhA*, *kasA*, *ndh* y *ahpC*. INH es un profármaco que requiere la activación de la enzima catalasa-peroxidasa codificada por el gen *katG*. La INH activada parece interrumpir la síntesis de ácidos micólicos esenciales al inhibir la enzima enoil-ACP reductasa dependiente de NADH codificada por *inhA* (73).

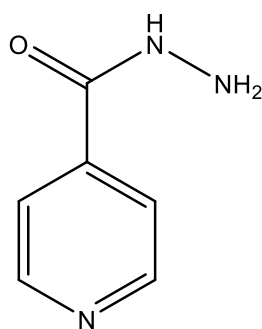


Figura 15. Estructura de isoniazida (72). Realizada con ChemDraw.

Los antibióticos de tipo rifamicina (Figura 16) se encuentran entre los agentes antituberculosos más potentes que se conocen(72). La resistencia a las rifamicinas es más comúnmente conferida por la aparición de mutaciones únicas en el gen de la subunidad  $\beta$  de la ARN polimerasa (*rpoB*). Aproximadamente el 95 % de las cepas resistentes a la rifampicina portan mutaciones dentro de la región determinante de la resistencia a la rifampicina (RRDR), una región de 81 pb que lleva los codones 507 a 533 de la *rpoB* gen (74).

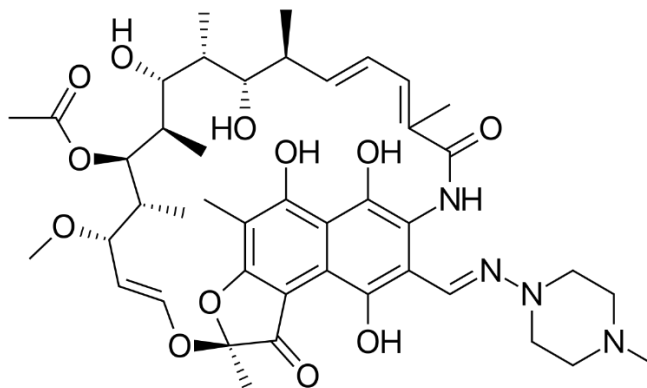


Figura 16. Estructura de rifamicina (72)

El Etambutol (EMB) (Figura 17), un compuesto sintético se introdujo por primera vez en 1961, el espectro de actividad de EMB incluye *M. tuberculosis* y muchas de las micobacterias no tuberculosas de crecimiento lento (72). EMB inhibe a *M. tuberculosis* al bloquear la síntesis de arabinogalactano la cual depende de la actividad del *embABC* los cuales son un grupo de genes, que codifica las arabinotransferasas que median la polimerización de arabinosa en arabinan (75). Varias líneas de evidencia sugieren que EMB ejerce su efecto tóxico sobre las micobacterias al inhibir proteínas codificadas por *embABC*, y las mutaciones en *embABC* también parecen desempeñar un papel clave en el desarrollo de la resistencia a EMB tanto en *M. tuberculosis* y *M. smegmatis* (76).

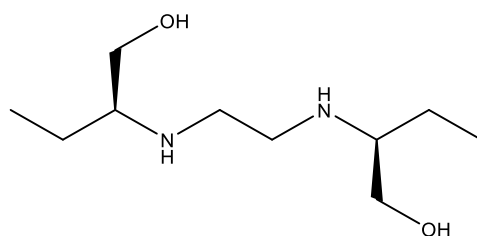


Figura 17. Estructura del etambutol (72). Realizada con ChemDraw.

La enzima 14 $\alpha$ -lanosterol desmetilasa (CYP51) es producto del gen *CYP51/ERG11*, perteneciente a la superfamilia del gen CYP el cual codifica proteínas que catalizan la 14 alfa-desmetilación del lanosterol (77).

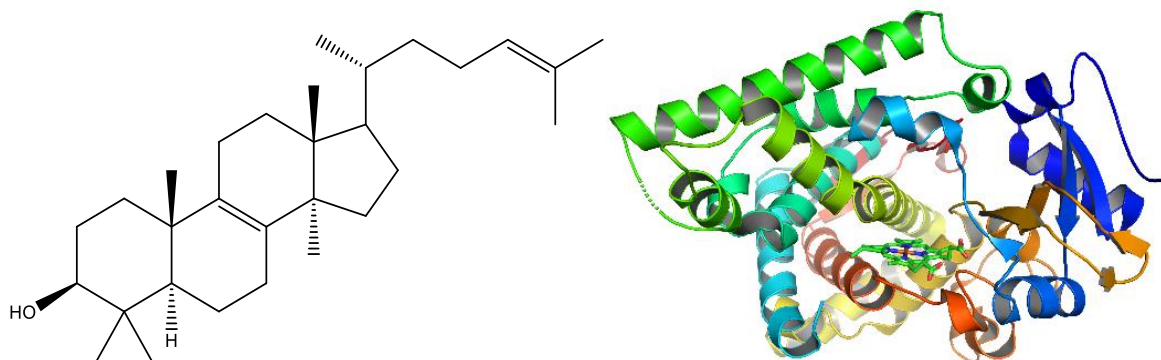


Figura 18. Estructura del ergosterol (realizada con ChemDraw) y de la lanosterol 14  $\alpha$  -desmetilasa (78).

Las enzimas homólogas catalizan reacciones iguales o similares en otras especies, incluidos hongos y parásitos. Debido al papel fundamental de los esteroides con una cadena lateral de hidrocarburo extendida en la posición 17 en el mantenimiento de la estructura de la membrana, la inhibición de la 14 $\alpha$ -desmetilación ha demostrado ser un objetivo eficaz para los

fármacos antimicóticos y antiparasitarios. Los  $14\alpha$ -metil esteroides que se acumulan en la membrana cuando se inhibe la  $14\alpha$ -desmetilasa provocan alteraciones de la membrana que conducen a la muerte celular. El incremento de fármacos azólicos como el ketoconazol y el posaconazol (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**) se deriva de su eficacia en el tratamiento de infecciones fúngicas (79).

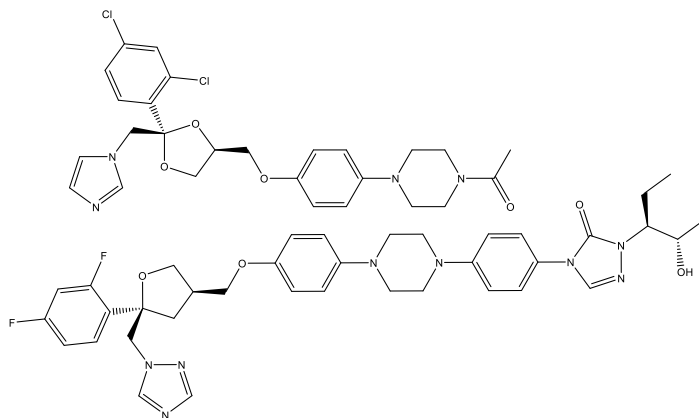


Figura 19. Estructura del ketoconazol y posaconazol. Realizadas en ChemDraw.

La C-14-  $\alpha$ -demetilasa o CYP51, es una enzima que forma parte del grupo de proteínas del citocromo P450 que metabolizan sustancias orgánicas y biosintetizan esteroides importantes. Particularmente, CYP51 ayuda a la conversión de lanosterol en 4,4-dimetilcolesta-8(9), 14, 24-trien- $3\beta$ -ol, al remover el grupo metilo del carbono  $14\alpha$ , siendo este compuesto un precursor del ergosterol, un importante constituyente de la membrana fúngica. Esta conversión se logra en 3 pasos con la ayuda de un reductor como NADPH y oxígeno molecular ( Figura 20) (80).

La esterol  $14\alpha$ -desmetilasa es una enzima muy importante en toda la biología debido a su papel esencial en la biosíntesis de esteroides. Es un objetivo farmacológico principal para una serie de infecciones microbianas (81).

El descubrimiento de que el genoma de *Mycobacterium tuberculosis* codifica una enzima CYP51 (CYP51B1) ha generado un gran interés por su posible utilidad como diana farmacológica. Posteriormente, se identificaron CYP51 en otras micobacterias y actinobacterias (82). El análisis estructural de *M. tuberculosis* CYP51 y CYP121 ha proporcionado datos importantes que mejoran nuestra comprensión de las características estructurales y la dinámica conformacional de P450. Las prioridades para estos sistemas son la determinación de las funciones bioquímicas *in vivo*, particularmente dada la demostración de que ambas enzimas

tienen una alta afinidad por los antibióticos azoles para lo que se han establecido las propiedades antimicobacterianas y antituberculosas de los azoles (83). Los azoles inhiben la síntesis de ergosterol en los hongos mediante la unión directa al esteroil 14 $\alpha$ -desmetilasa (CYP51) (Figura 20) (42).

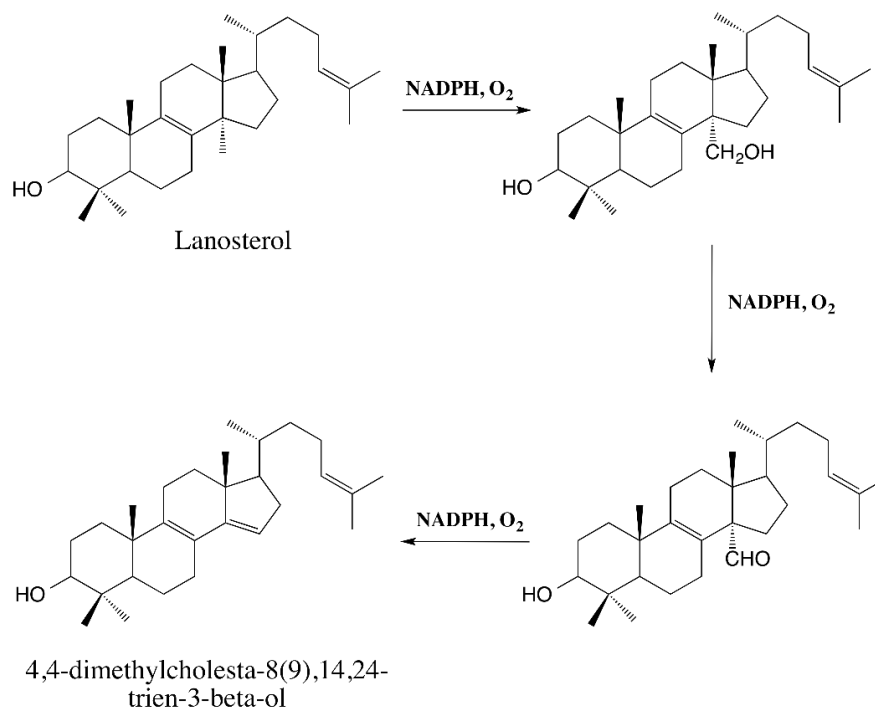


Figura 20. Conversión del lanosterol en 4,4-dimetilcolesta-8(9), 14,24-trien-3 $\beta$ -ol, intermediario en la síntesis del ergosterol(84).

Fluconazol, el compuesto triazólico más conocido, es una alternativa terapéutica habitual en el tratamiento de infecciones fúngicas sistémicas específicas (85). La primera generación de inhibidores antimicóticos de CYP51, fluconazol (FLU) e itraconazol, han revolucionado el tratamiento de algunas infecciones fúngicas graves (86).

Los antifúngicos de tipo azólicos inhiben selectivamente a CYP51 en levaduras y hongos sobre sus contrapartes de plantas y humanos (87), pero la inhibición cruzada de CYP51 en dos especies diferentes puede causar efectos secundarios indeseables y es otra razón para la búsqueda continua de mejores agentes (88).

Si dos o más P450 que se unen a azoles son fundamentales para la viabilidad y/o patogenicidad de Mbt, entonces el desarrollo de resistencia a los fármacos azoles se verá drásticamente disminuido. La reciente información de resistencia de Mbt a otros antibióticos es

una razón de peso para caracterizar con mayor detalle los Mbt P450 y sus interacciones con los azoles (69).

El tratamiento de la tuberculosis es difícil, en parte, porque *M. tuberculosis* evita el sistema inmunitario al residir dentro de los macrófagos. El desafío, en términos de desarrollo de fármacos, es diseñar moléculas específicas de Mbt CYP51 que puedan acceder al patógeno sin inhibir la actividad de los CYP51 humanos (89).

La lucha farmacológica contra la TB se está desarrollando en distintos campos por medio de la búsqueda de fármacos que mejoren el cumplimiento terapéutico mediante el desarrollo de formas farmacéuticas de acción sostenida. De igual manera, se están buscando nuevos mecanismos de acción para poder combatir las resistencias.

En diversos estudios se están probando nuevas moléculas oxazolidinonas (90) que inhiben la síntesis proteica en fases tempranas, entre ellas se encuentra el linezolid (Figura 21) (91). Otro grupo es el de los nitroimidazopiranos, (Figura 21) con una estructura similar al metronidazol (92). En la actualidad, con el conocimiento de la secuencia del genoma de *M. tuberculosis* se está probablemente en mejor posición para el desarrollo de nuevos medicamentos (93).

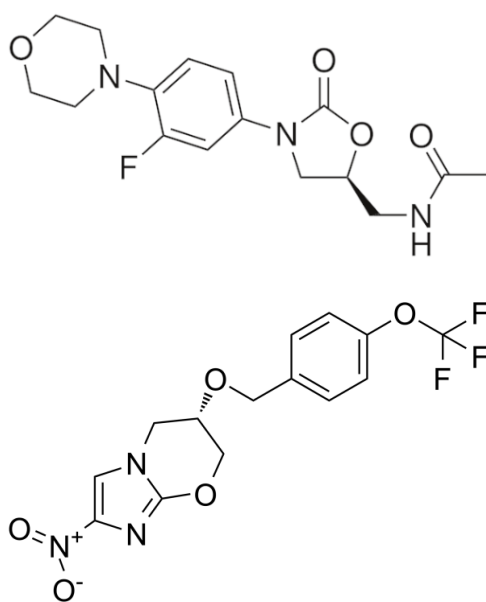


Figura 21. Estructuras del linezolid y PA 824 (nitroimidazopirano) respectivamente. Realizadas en ChemDraw.

## 2 Objetivos

### 2.1 Objetivo General

Reposicionar a partir de una base de datos de fármacos aprobados y moléculas en contra de la CDK2 de CaCU y CYP51 de *Mycobacterium tuberculosis*.

### 2.2 Objetivos particulares

1. Reposicionar y evaluar sus criterios farmacológicos de moléculas aprobadas de una base de datos de fármacos.
2. Evaluar y seleccionar a los mejores candidatos moleculares por docking molecular en contra de la CDK2 asociada al desarrollo de cáncer cervicouterino
3. Evaluar y seleccionar a los mejores candidatos moleculares por docking molecular en contra de la CYP51 de *Mycobacterium tuberculosis*.

## 3 Metodología

### 3.1 Obtención de ligandos

La obtención de los fármacos se realizó mediante la base de datos de Drugbank (94) y GuideToPharmacology (95) buscando previamente las moléculas con mejor afinidad experimental en contra de las dianas seleccionadas (96). Se seleccionaron como fármacos control al Flavopiridol (97) para CDK2, y al ketoconazol, fluconazol (98) para CYP51.

### 3.2 Obtención de dianas

Se llevó a cabo mediante la base de datos RCSB PDB (99) seleccionando la estructura de la quinasa dependiente de ciclina tipo 2 (CDK2) (Figura 22) con el código de acceso PDB ID: 6INL (100) y la CYP51 de *Mycobacterium tuberculosis* (Figura 22) con código de acceso PDB ID: 2CI0 (101).

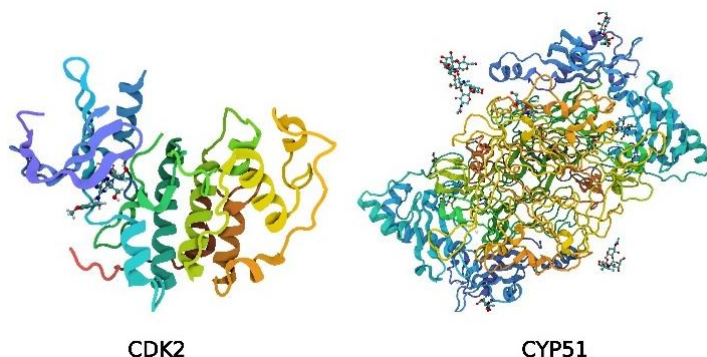


Figura 22. Estructura 3D de las dianas seleccionadas (56,78).

### 3.3 Docking molecular

Los datos de docking molecular fueron obtenidos gracias al departamento *in silico* del laboratorio de elucidación y síntesis en química orgánica (LESQO) utilizando el software Schrödinger (102) y los paquetes Epik y Glide para la preparación y docking de los ligandos y las dianas estudiadas.



### 3.4 Análisis de datos

Se utilizó el software Microsoft Excel para el análisis de datos obtenidos por Glide, se depuraron aquellas moléculas con más de un resultado de Energía de Acoplamiento (EA) , y posteriormente se descartaron las moléculas con menor EA con respecto a los fármacos control establecidos. Finalmente, se ordenaron las estructuras restantes y se analizaron las propiedades farmacocinéticas utilizando el software Schrödinger y mediante los criterios de Lipinski (Figura 23), Ghose (Figura 24) y Veber (Figura 25) para determinar y comparar efectos secundarios reportados de los posibles fármacos, así como también la similitud en cuanto al fármaco propuesto.

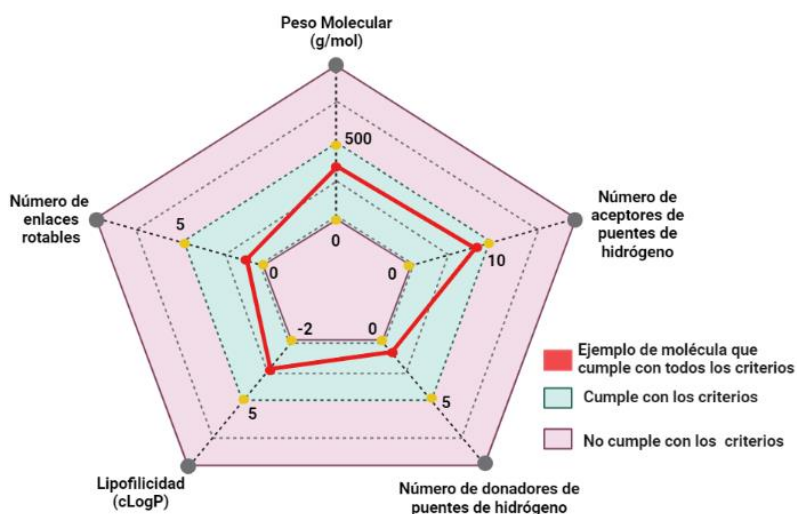


Figura 23. Criterios de la regla de lipinski o regla de los 5. Imagen elaborada por los autores.

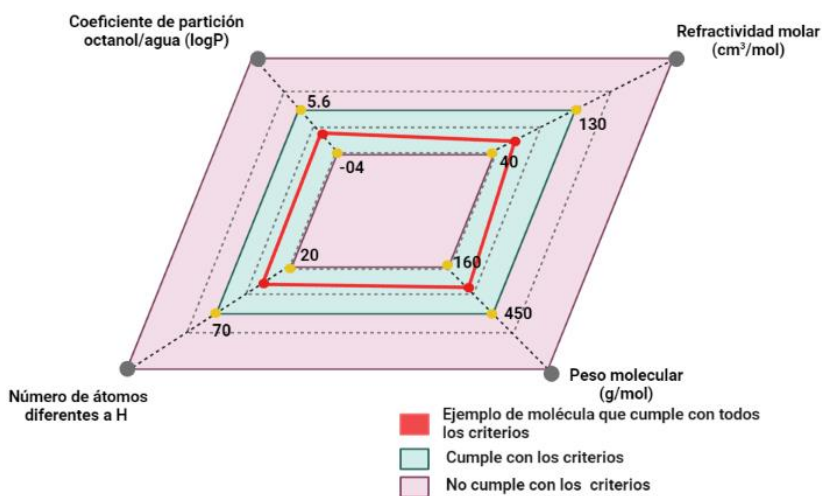


Figura 24. Criterios de la regla de Ghose. Imagen elaborada por los autores.

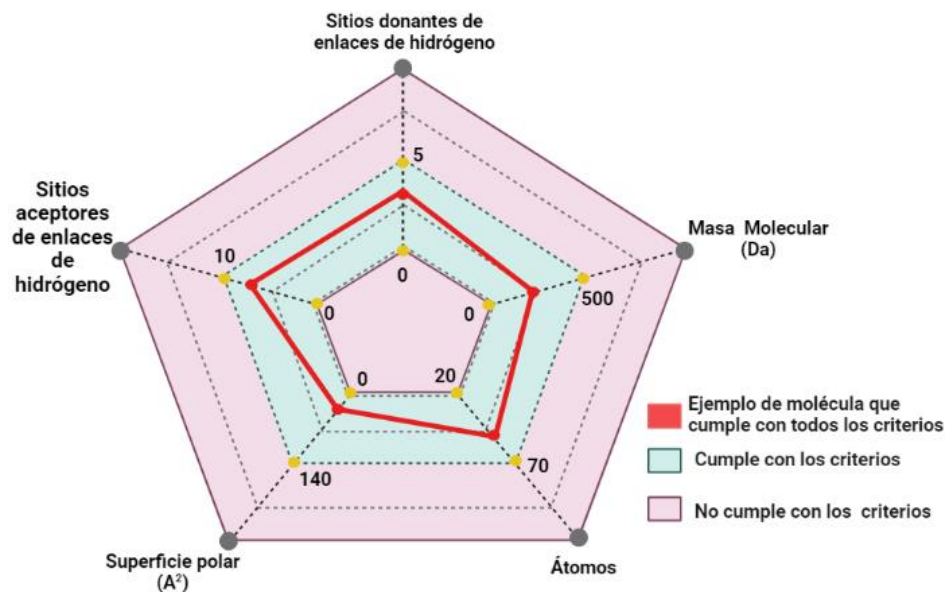


Figura 25. Criterios de la regla de Veber. Imagen elaborada por los autores.

A partir de una base de datos de 6396 se eliminaron las moléculas por debajo de la energía de afinidad de los fármacos de referencia, por tanto, nos quedaron un aproximado de 2000 moléculas. Por otra parte, se analizaron todas las moléculas las cuales cumplieran con los criterios de Lipinski, Ghose y Veber quedándonos un total de 1055 moléculas para CDK2 y 58 moléculas para CYP51 de las cuales obtuvimos las moléculas que se proponen para el reposicionamiento de fármacos. Finalmente, se obtuvieron dichas moléculas que cumplen con las energías de afinidad y con los criterios de lipinski antes mencionados (Figura 23).

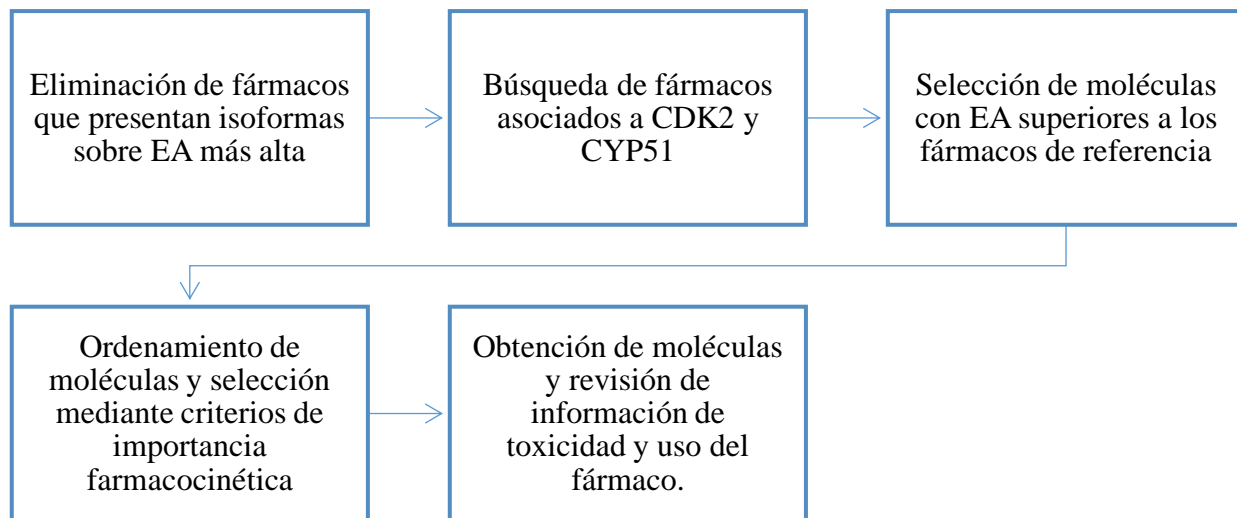


Figura 26. Diagrama de metodología.

## 4 Discusión de Resultados

El reposicionamiento de fármacos es una de las herramientas más importantes para la obtención de moléculas en contra de dianas biológicas asociadas a enfermedades de interés sin tener que diseñar nuevas estructuras y pasar por todas las pruebas asociadas a la aprobación de un fármaco. En este proyecto se realizó el reposicionamiento de la base de datos del DrugBank en contra de proteínas asociadas al cáncer cervicouterino y a la patogenia de *M. tuberculosis*.

Se llevó a cabo el docking molecular contra las dianas CDK2 y CYP51, obteniendo las energías de acoplamiento con las dianas de estudio, para comparar con fármacos de referencia. Posteriormente se analizaron los efectos secundarios reportados de todos estos fármacos, siendo esto un indicador para determinar las moléculas ideales para el reposicionamiento de fármacos. Así mismo se utilizaron los criterios de Lipinski (Figura 23), Ghose (Figura 24) y Veber (Figura 25) para poder determinar el cumplimiento de los criterios en cada molécula obtenida.

Seguidamente mediante los filtros de Lipinski (Figura 23) se seleccionaron las moléculas que cumplen con estos criterios demostrando así la accesibilidad para ser administrados por vía oral, enseguida se realizó un análisis de los códigos ATC que determinan la clasificación anatómica-terapéutica-química de los fármacos para así ver el mecanismo de acción de cada molécula para con las dianas.



Figura 27. Resumen gráfico de reposicionamiento de farmacos. Imagen elaborada por los autores.

## 4.1 Cáncer cervical

En cuanto a las moléculas que presentaron interacción con la diana estudiada fueron un total de 2314 de las cuales en base al fármaco de referencia el cual presentó una energía de acoplamiento de -5.3 kcal/mol tomándose como referencia para así descartar todos los fármacos por debajo de este valor, por lo que se redujo a un total de 1055 moléculas, finalmente se seleccionaron únicamente las primeras 10 debido a que estas presentaban una EA superior y cumplían con todos los criterios farmacocinéticos buscados.

Para realizar la comparación de las moléculas con EA más altas se analizó el fármaco de referencia el cual es el flavopiridol este es un inhibidor de amplio espectro de CDK según ensayos clínicos, este induce la detención del ciclo celular G1 y G2 (103), este fármaco ha demostrado una eficacia insatisfactoria debido a la alta toxicidad que presenta en los pacientes. Utilizarlo como tratamiento para cáncer no es adecuado de modo que los fármacos que se presentan para el reposicionamiento mantienen EA superiores, así mismo cumplen con los criterios farmacocinéticos y son tratamientos actualmente utilizados para diversos tipos de cánceres.

Para los fármacos evaluados en contra de la proteína CDK2 involucrada en el desarrollo de cáncer cervical se obtuvieron los resultados que se muestran en la Figura 28 en donde se observa la comparación de EA en todos los fármacos con respecto al de referencia (en amarillo) así como también los fármacos que cumplen con los criterios farmacocinéticos; L: Cumple con Lipinski G: cumple con Ghose, V: Cumple con Veber, mostrando gráficamente como las EA hacia CDK2 son totalmente superiores en comparación al flavopiridol superándolos por encima de -3 kcal/mol.

Se analizaron todos los fármacos seleccionando como los más adecuados aquellos que cumplieran los criterios de Lipinski, Ghose y Veber y siendo superiores al fármaco de referencia, determinándose que los fármacos ideales para reposicionamiento son: pazopanib, rucaparib, enasidenib y tipiracil. Los efectos tóxicos y la farmacodinamia se describirán a continuación.

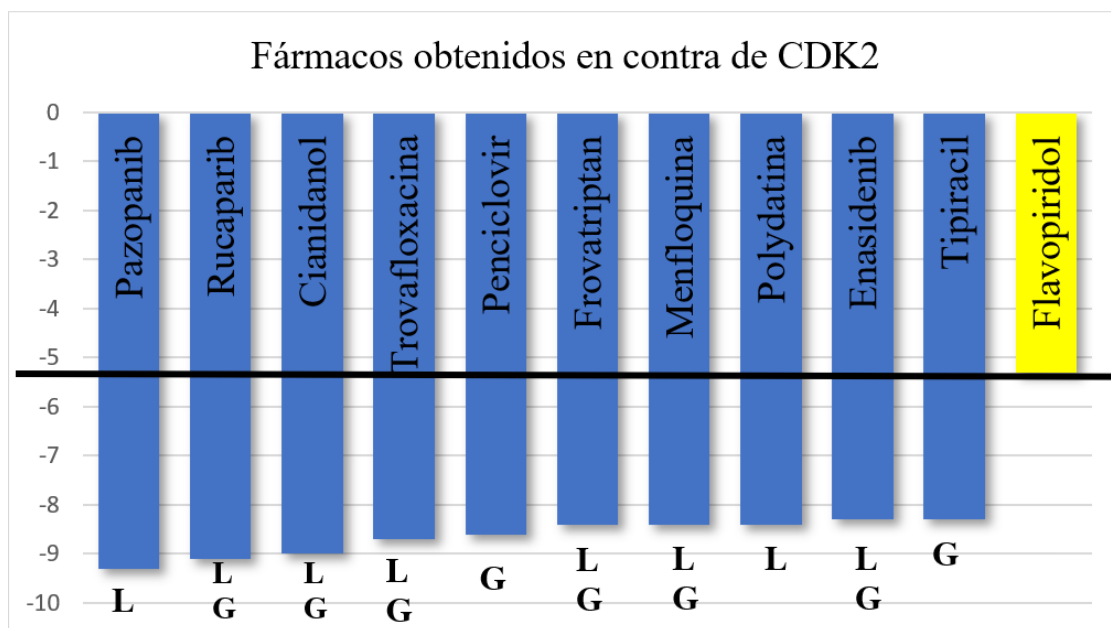


Figura 28. Energía de acoplamiento de los mejores derivados en CDK2 y fármaco de referencia.

Para determinar la acción de los fármacos también es indispensable revisar los códigos ATC que indican hacia dónde va dirigida la actividad farmacológica original de cada uno de estos fármacos seleccionados. A continuación, en la Tabla 1 se presentan los códigos ATC, en donde L: Agentes antineoplásicos e inmunomoduladores, J: Antiinfeccioso de uso sistémico, D: Dermatológico, N: Sistema Nervioso y P: Productos antiparasitarios, insecticidas y repelentes.

Tabla 1. Codigos ATC de los fármacos seleccionados contra CDK2.

Fármacos	Códigos ATC	Fármacos	Códigos ATC
Pazopanib	L	Frovatriptan	N
Rucaparib	L	Menfloquina	P
Cianidanol	-	Polydatina	-
Trovafloxacin	J	Enasidenib	L
Penciclovir	D, J	Tipiracil	L

En la Figura 29 se muestran las estructuras que fueron seleccionadas como posibles candidatos para el reposicionamiento, se observó que estas estructuras la gran mayoría de ellas comparte similitud en cuanto a la presencia de estructuras aromáticas, y la presencia de nitrógeno tanto en forma de amina o como parte también de las estructuras aromáticas, por otro

lado, se observaron varias estructuras que presentan flúor en cuatro de ellas. Otra similitud que se encontró fue en el caso del cianidanol, trovafloxacina, penciclovir, menfloquina y enasidenib la presencia de alcoholes en su estructura.

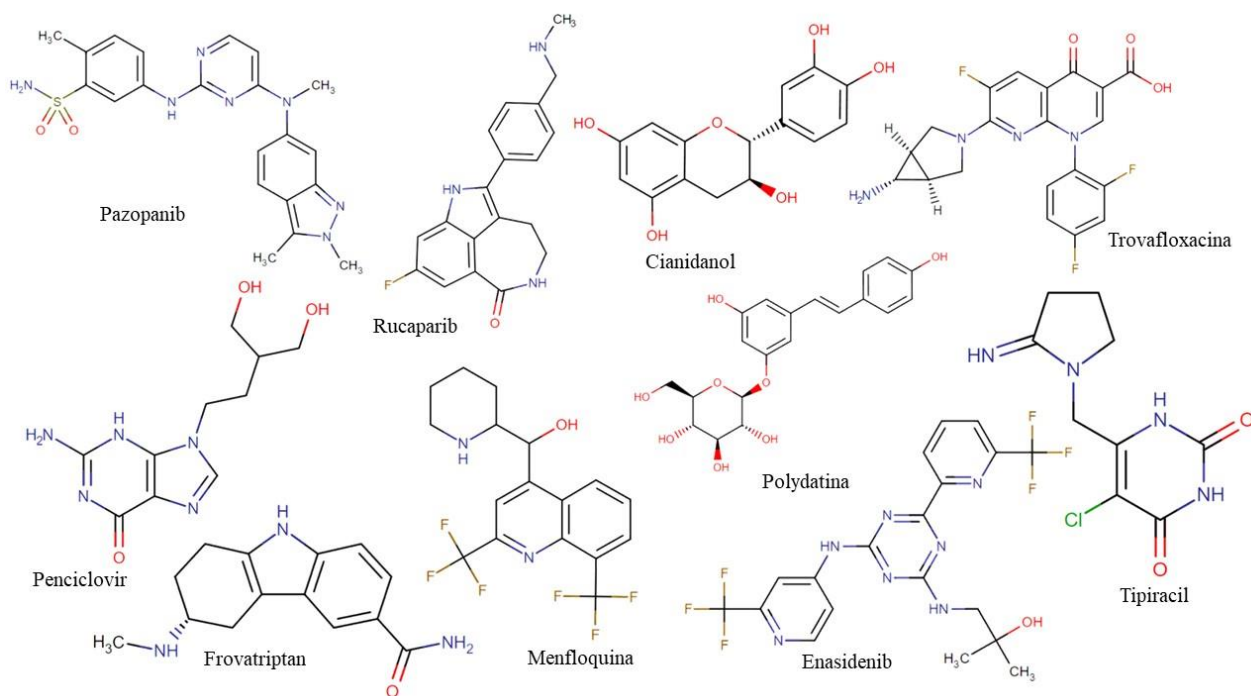


Figura 29. Comparación de las estructuras seleccionadas en el reposicionamiento de fármacos de cáncer cervical. Realizadas con ChemDraw

Una vez bien definidas las estructuras de todos los fármacos seleccionados, se procede a realizar un análisis mas profundo en cuanto a la indicación terapéutica de estos, efectos adversos que pueden presentar para así poder determinar cuales son ideales para su uso y cuales podrían no ser una opción adecuada en reposicionamiento, ya que no solo se necesita de EA altas, si no tambien se deben tener diversas consideraciones.

### 4.1.1 Pazopanib

El fármaco pazopanib (Figura 30) demostró tener una EA superior a los demás, colocándolo como un fármaco ideal para el reposicionamiento, este es un inhibidor de la tirosina quinasa multidiana (104), siendo biodisponible por vía oral demostrando mantener actividad en contra de diversos tipos de cánceres incluyendo el cáncer de ovario, pudiendo ser un tratamiento innovador ya que su indicación terapéutica ha sido para otros tipos de cáncer, el redireccionarlo hacia CaCU puede ser un tratamiento novedoso y reducir tiempo en investigación y recreación de nuevos fármacos.

Simultáneamente se analizaron los efectos adversos para así poder compararlos con los efectos adversos del flavopiridol y de las demás moléculas, el pazopanib puede producir náuseas, diarrea, hipertensión, despigmentación del pelo, y elevación de transaminasas (105) estos efectos son principalmente de grado 1-2 siendo de leves a moderados lo cual no representa un peligro para la salud.

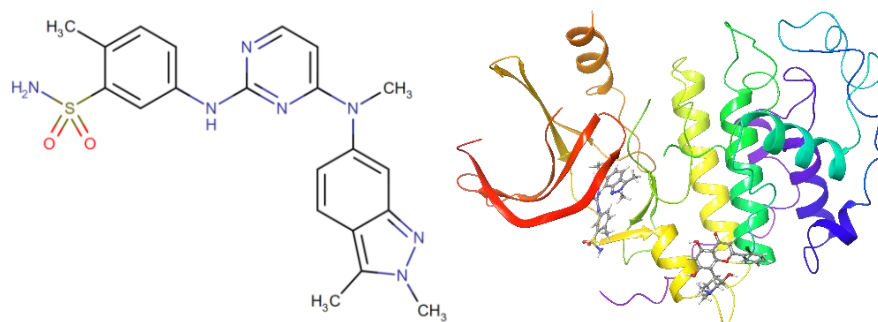


Figura 30. Estructura del pazopanib y superposición en CDK2.

Este fármaco es una molécula pequeña la cual es aceptada por los criterios de Lipinski con un peso molecular de 437.5 g/mol, en cuanto a la EA posee la más alta en comparación con el fármaco de referencia con un valor de -9.3 kcal/mol la cual lo coloca en la primera posición de todos los demás evaluados, posee, además -4 kcal/mol más de EA que el flavopiridol. El pazopanib según los códigos ATC posee actividad antineoplásica. Inhibe un 50% de actividad enzimática de quinasa, así como la replicación del ADN en CDK2 (106). No se reportan efectos adversos importantes por lo que se considera como de las mejores moléculas candidatas para inhibir a la CDK2, además se analizó durante el docking molecular, que el pazopanib se encuentra en el sitio activo (Figura 30) por lo que puede ser un inhibidor de la diana.

#### 4.1.2 Rucaparib

En cuanto al fármaco rucaparib (Figura 31), se trata de un indol tricíclico que es biodisponible por vía oral, actualmente es utilizado para el tratamiento del cáncer de ovario recidivante mediante la inhibición de PARP I,II y III (107) el rucaparib también presenta efectos adversos que ya han sido reportados algunos de estos son náuseas y vomito, disnea, trombocitopenia, neutropenia y síndrome mielodisplásico (108) por lo que en comparación con el pazopanib los riesgos de la administración son mayores. Este fármaco también es utilizado para el tratamiento de otros tipos de cánceres, pero la EA que muestra hacia CDK2 es alto, por este motivo reenfocarlo en tratar el CaCU sería novedoso y de gran utilidad para los pacientes que cursan este tipo de cáncer.

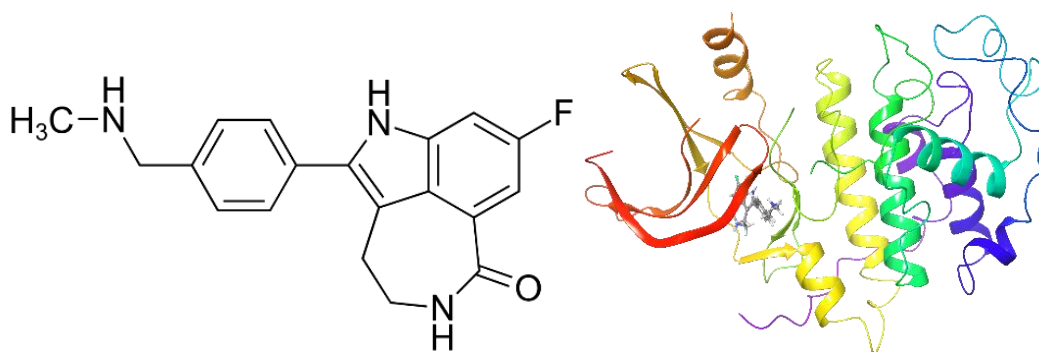


Figura 31. Estructura del rucaparib y superposición en CDK2.

Este fármaco sigue superando energéticamente al fármaco de referencia y comparado contra el mejor resultado energético, se encuentra solamente por debajo por -0.2 kcal/mol del pazopanib, así como también la evaluación de sus propiedades farmacocinéticas demuestran que es una molécula dentro de los parámetros ideales con un peso molecular de 323.4 g/mol, además sus indicaciones terapéuticas originales hacia cáncer de ovario los hace de gran interés como molécula hacia el tratamiento de CaCU debido a las potenciales metástasis dentro del sistema reproductor, además esta molécula cumple con Lipinski (L) y Ghose (G), los efectos secundarios son más graves en comparación con pazopanib sin embargo es una opción de interés para el tratamiento contra CDK2. En cuanto a la unión del fármaco rucaparib se observa mediante el docking molecular que hay una unión en el sitio activo de CDK2 (Figura 31), por lo que nos indicaría que este fármaco puede inhibir a la diana en el reposicionamiento.



### 4.1.3 Enasidenib

En tercer lugar, se encuentra el enasidenib (Figura 32) este fármaco es un inhibidor selectivo de la enzima isocitrato deshidrogenasa la cual está involucrada en diversos procesos celulares incluido la modificación del ADN, además la administración es por vía oral para el tratamiento de pacientes que cursan con una leucemia mieloide aguda (109) este fármaco mantiene una EA todavía superior al de referencia, no obstante se tiene que hacer una revisión de los efectos adversos que puede presentar para así poder determinar si su uso es ideal para reposicionamiento.

En cuanto a los efectos adversos se presentan afectaciones en los sistemas reproductivos masculino y femenino, así como degeneración de los túbulos seminíferos, hipospermia, en las mujeres puede provocar disminución de los cuerpos lúteos y un aumento de los folículos atresicos en los ovarios (110) estos efectos pueden mantener una farmacovigilancia adecuada.

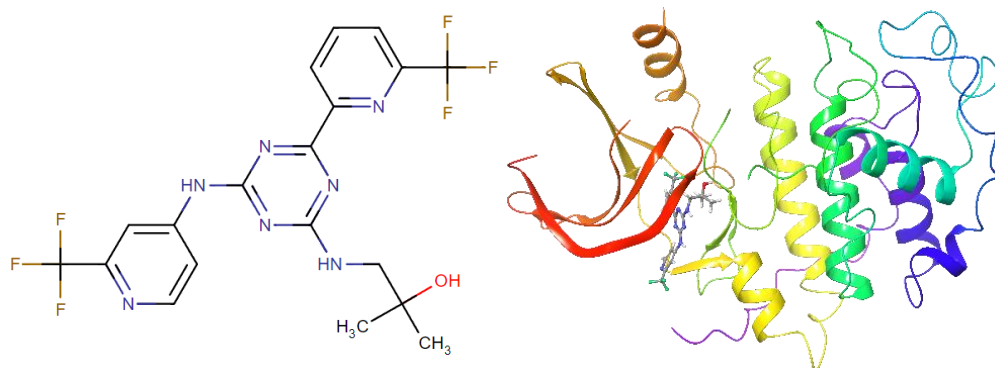


Figura 32. Estructura del enasidenib y superposición en CDK2.

Esta molécula está por debajo de las demás en cuanto a EA con un valor de  $-8.3$  kcal/mol, pero por encima del fármaco de referencia, cumple con los criterios de L y G y al ser un fármaco utilizado para leucemia, puede tener una actividad importante hacia el CaCU por medio del reposicionamiento por otra parte los efectos tóxicos que se encuentran son de importancia ya que puede provocar cambios en los sistemas reproductivos de las pacientes, es necesario mantener una farmacovigilancia para descartar efectos adversos graves. Mediante el análisis del docking molecular se determinó el sitio activo de esta molécula en CDK2 (Figura 32), lo cual nos indica que puede existir una inhibición para la diana así siendo un candidato ideal para utilizarse como tratamiento en CDK2 de cáncer cervical.

#### 4.1.4 Tipiracil

Finalmente, el fármaco tipiracil que es un inhibidor de la timidina fosforilasa la cual se utiliza como tratamiento complementario de pacientes con ciertos tipos de cánceres gástricos o colorrectales (111) muestra también energías de acoplamiento superiores al flavopiridol pudiendo tener efecto en CDK2 ya que también es utilizado para tratamiento de cáncer como los anteriores, por este motivo se investigaron los efectos adversos frecuentes algunos de ellos son: anemia, neutropenia, puede llegar a causar mielo supresión. Estos efectos pueden llegar a ser perjudiciales, se considera que con una correcta administración y farmacovigilancia puede llegar a ser un tratamiento novedoso para el CaCU.

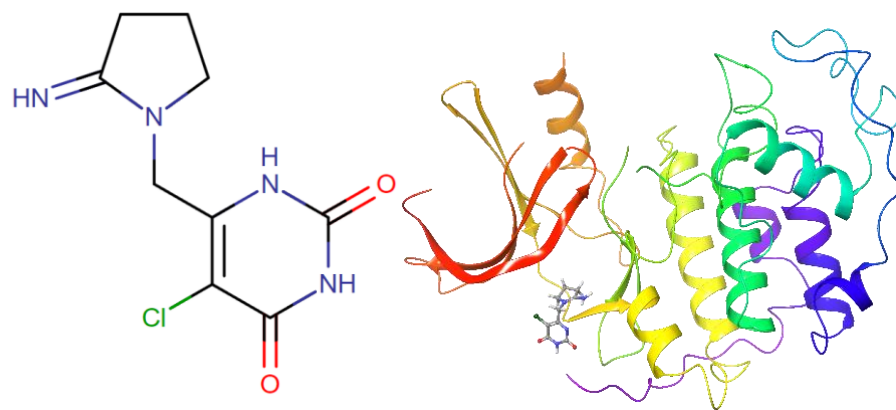


Figura 33. Estructura del tipiracil y superposición en CDK2.

Este fármaco presentó una EA de -8.3 kcal/mol la cual la convierte en la molécula con la menor EA de todas las moléculas, aunque superando al fármaco de referencia, cumple solamente con los criterios de Ghose. La regla de Ghose es menos sensible pero más específica que las reglas de Veber y Lipinski (112). Siguiendo los códigos ATC podemos observar que tiene propiedades antineoplásicas hacia diferentes tipos de cáncer. Según los efectos secundarios es una molécula que puede provocar anemias a los pacientes, efectos que pueden ser vigilados en los mismos, por lo que es una opción adecuada para el reposicionamiento de fármacos, en cuanto al sitio activo en CDK2 se demuestran en la Figura 33 que se encuentra presente, esto se comprueba gracias al docking molecular, por lo que se puede tener una posible inhibición y tratamiento para nuestra diana estudiada.

## 4.2 *Mycobacterium tuberculosis*

En principio se definieron las moléculas que son posibles candidatos para estudiar tomando en consideración los efectos tóxicos que estos puedan provocar al organismo, para evaluar cuál es el mejor fármaco disponible contra *Mycobacterium tuberculosis*, los cuales se muestran a continuación haciendo una revisión de moléculas y características de los fármacos de interés.

El fármaco que se utilizó como referencia fue el ketoconazol que inhibe la síntesis de ergosterol en hongos y de colesterol en células de mamíferos. Además, interfiere con los sistemas enzimáticos del citocromo P450 en varios órganos como los testículos, los ovarios, las glándulas suprarrenales, los riñones y el hígado. Al igual que otros fármacos de imidazol, parece interactuar con el citocromo P450 en el sitio del hierro hemo (113), en cuanto a los efectos adversos que presenta son: hepatotoxicidad, desregulación endocrina, por lo que su uso no es altamente recomendado, además de no cumplir con todos los criterios farmacocinéticos por lo que no es posible la administración vía oral.

En cuanto a la selección de moléculas se obtuvieron 2289 las cuales presentaron interacción con la diana, posteriormente se eliminaron todos los fármacos por debajo de -7.0 kcal/mol del ketoconazol (fármaco de referencia) quedando así alrededor de 101 moléculas, finalmente se seleccionaron las primeras 10 moléculas con las más altas EA, las cuales en comparación con el fármaco de referencia mantenían una afinidad superior, además de cumplir con los criterios que se mencionan a continuación.

Los mejores fármacos obtenidos en contra de CYP51 que se muestran en la Figura 34 en donde se observa la comparación de EA en todos los fármacos con respecto al de referencia (en amarillo) así mismo al cumplir con L: Lipinski G: Ghose, y V: Veber.

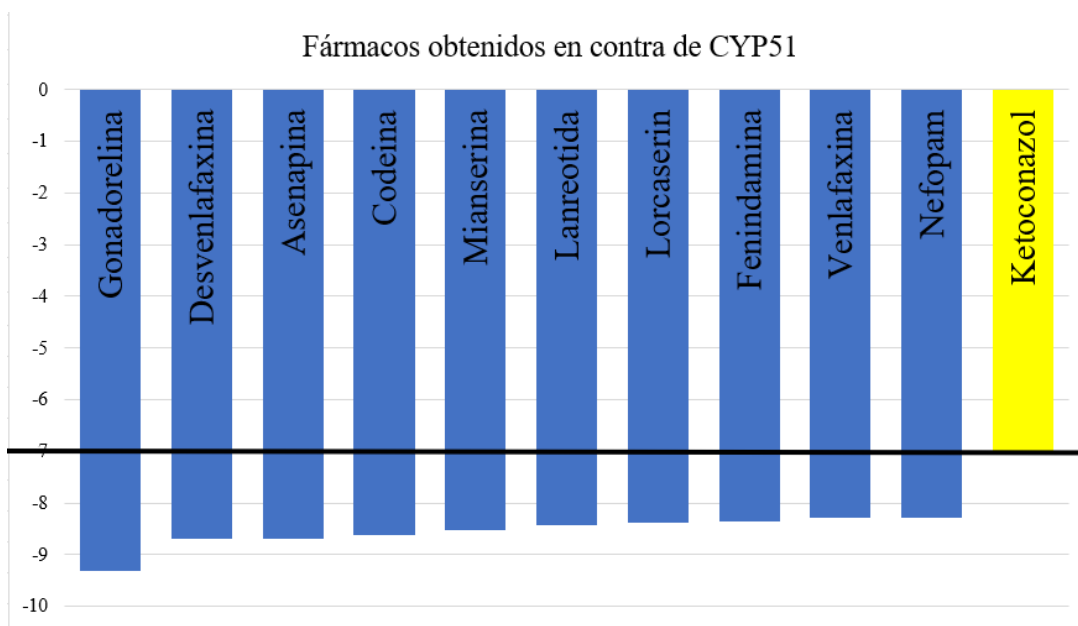


Figura 34. Energía de acoplamiento de los mejores derivados en CYP51 y fármaco de referencia.

En la Tabla 2 se muestran los códigos ATC de los fármacos de interés en donde: V: Varios, H: Preparados hormonales sistémicos, excluyendo hormonas sexuales e insulinas, N: Sistema Nervioso, R: Sistema Respiratorio, A: Tracto alimentario y metabolismo.

Tabla 2. Codigos ATC de los farmacos seleccionados contra CYP51

Fármacos	Códigos ATC	Fármacos	Códigos ATC
Gonadorelina	V,H	Lanreotida	H
Desvenlafaxina	N	Lorcaserin	A
Asenapina	N	Fenindamina	R
Codeína	N,R	Venlafaxina	N
Mianserina	N	Nefopam	N

En la Figura 35 se muestran todas las estructuras de las moléculas seleccionadas para *M. tuberculosis*, en cuanto a similitud solamente algunas obtienen semejanzas entre si, como lo son, la desvenlafaxina, asenapina, venlafaxina, fenidamina y nefopam, manteniendo en su estructura uniones con nitrógeno, por otro lado, en el caso de la desvenlafaxina, venlafaxina, codeína, presentan uniones con alcoholes. Las moléculas que no presentan ningún tipo de similitud entre si son la gonadorelina y lanreotida, además de que en comparación con las demás moléculas

estas presentan un mayor tamaño y por lo tanto no cumplen con los criterios de Lipinski. El mianserina y la asenapina son las moléculas que estructuralmente tienen mayor similitud debido a los enlaces y moléculas que tienen en su estructura.

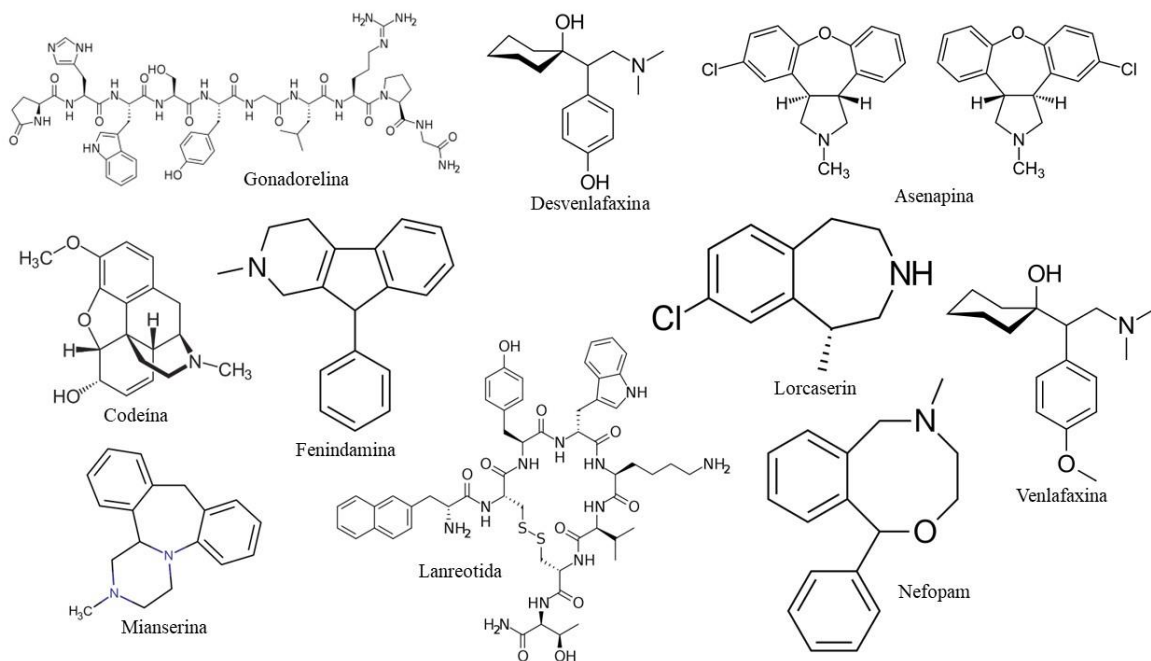


Figura 35. Comparación de estructuras seleccionadas en el reposicionamiento de fármacos en tuberculosis. Realizada con ChemDraw.

Tomando en cuenta los códigos ATC, los gráficos y los cumplimientos de los criterios de Lipinski, Ghose y Veber, se realizó una breve investigación de todos los efectos adversos de cada fármaco propuesto, así como la indicación terapéutica que estos tienen actualmente, ya que el objetivo es encontrar tratamientos novedosos para *M. tuberculosis* a partir de fármacos ya establecidos.

#### 4.2.1 Gonadorelina

La gonadorelina (Figura 36) es un antagonista de la hormona liberadora de gonadotropina utilizada ampliamente para el tratamiento de la pubertad precoz, amenorrea e hipogonadismo. Es un decapeptido formado por la secuencia Pyro-Glu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly siendo administrada usualmente por vía intravenosa o como spray nasal (114). Algunos efectos secundarios que pueden producirse por el uso de una hormona son reacciones locales, dolor de cabeza y molestias abdominales.

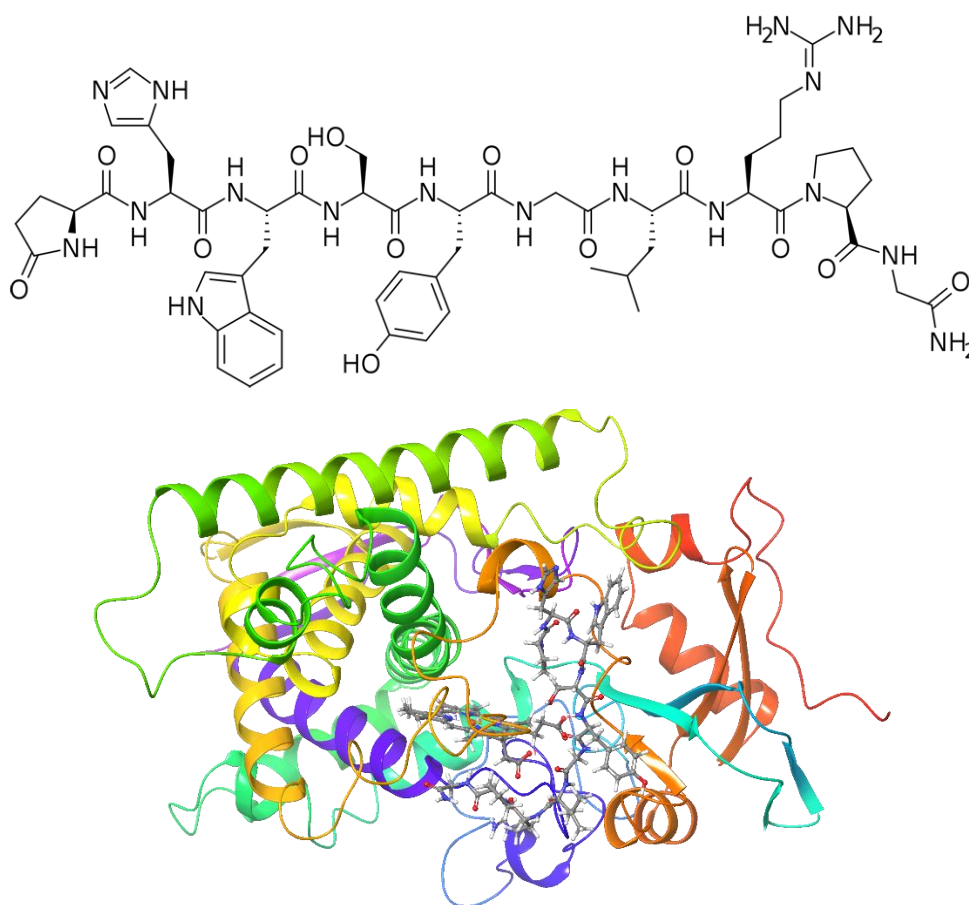


Figura 36. Estructura de la gonadorelina y superposición en CYP51.

Se determinó que este fármaco presentó la mejor energía de acoplamiento (EA) de todos los fármacos evaluados, con una energía de acoplamiento de -9.31 kcal/mol, es decir una diferencia superior a la del fármaco de referencia ketoconazol de -2.29 kcal/mol. Sin embargo, a pesar de que su EA es la más alta, es importante mencionar desventajas como reposicionamiento, tanto por sus características fisicoquímicas, como por sus indicaciones

terapéuticas originales. En primer lugar, ya que se trata de un péptido, su peso molecular es de 1182.31 g/mol y lo cual la descarta como molécula pequeña, explicando la necesidad de administrar el fármaco por vías diferentes a la oral lo cual ya es de por sí una potencial desventaja debido a que aumenta la dificultad de administración al paciente. La segunda razón de peso por la cual se descartó este resultado es que se trata de una hormona, por lo cual el tratamiento de una enfermedad infecciosa como la tuberculosis con esta hormona tendría efectos más rápidos en la producción de hormonas sexuales tras la inducción de la producción de gonadotropinas y resultando en un potencial desbalance hormonal del paciente, a pesar de tener presencia en CYP51 como se muestra en la Figura 36 ya que el sitio activo de la gonadorelina está presente en la diana, no es una opción como tratamiento de tuberculosis por las características antes mencionadas.

#### 4.2.2 Desvenlafaxina

El segundo fármaco es la desvenlafaxina (Figura 37) el cual es un inhibidor de la recaptación de serotonina y norepinefrina, utilizado como antidepresivos mayores en adultos (115) por otro lado los efectos adversos que pueden llegar a presentar los pacientes administrados con este fármaco son transpiración, retención urinaria, hipotonía, temblor, debilidad muscular, pérdida de peso, en tanto se mantenga una debida farmacovigilancia los efectos adversos no se consideran de alto riesgo.

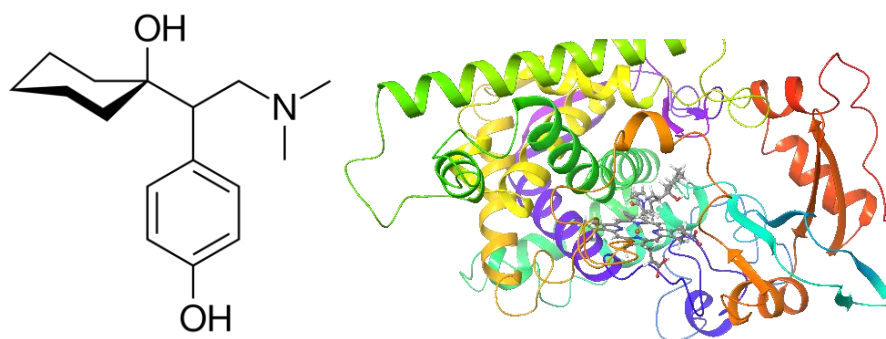


Figura 37. Estructura de la desvenlafaxina y superposición en CYP51.

Este fármaco está asociado hacia el tratamiento de la depresión, presenta un peso molecular de 263.3 g/mol, lo cual lo categoriza como un posible candidato para la reposición de fármacos contra CYP51, actúa según su indicación terapéutica original sobre el sistema nervioso central, además cumple con los criterios de L y G, aunque una de sus desventajas de

su administración es la provocación de numerosos efectos secundarios de los cuales los más destacados son la dependencia, por lo que podría provocar una adicción en pacientes susceptibles. Este fármaco se seleccionó como posible candidato por ser una molécula pequeña y cumplir con estos criterios, además mantiene una EA superior al ketoconazol que es el fármaco de referencia. Se encuentra presente en CYP51 mediante el sitio de activación (Figura 37) lo cual refiere a una posible inhibición de la diana y posible tratamiento para la tuberculosis.

#### 4.2.3 Asenapina

En cuanto a la asenapina (Figura 38) se trata de un fármaco utilizado como antipsicótico de segunda generación con alta especificidad a numerosos subtipos de receptores de dopamina, serotonina, noradrenalina e histamina (116) este puede ser utilizado para el tratamiento de la esquizofrenia y el trastorno bipolar. Debido a la indicación terapéutica reenfocarlo para el tratamiento de TB resulta en un tratamiento novedoso, por este motivo es importante analizar los efectos adversos que se puedan presentar con su administración.

Los efectos adversos que se pueden presentar son: galactorrea, dermatosis neutrofilica, espasmos, pánico, aumento de peso, euforia, distonía, hipomanía retención urinaria, hiperglucemia y disfunción reproductiva (117).

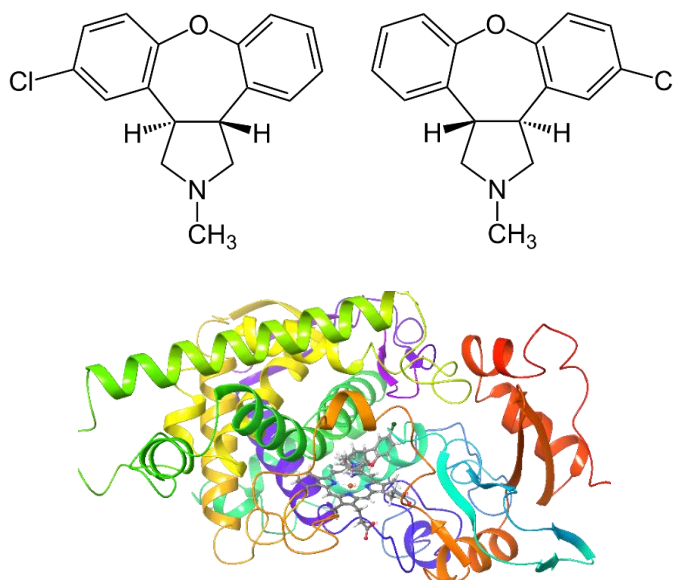


Figura 38. Estructura de la asenapina y superposición en CYP51.



Se determinó que es un fármaco de EA alta, además de que esta cumple con los criterios de L, G y V por lo que la molécula es de tamaño ideal para su administración oral con un peso molecular de 285.8 g/mol ligeramente superior a la desvenlafaxina, la vía de administración es sublingual, es un fármaco con el cual se puede tratar la esquizofrenia, debido a la relación con la diana estudiada puede tener efectos hacia esta por medio del reposicionamiento. También está dirigida hacia el sistema nervioso central (SNC) por los códigos ATC presentando una EA mayor al ketoconazol. Debido a que su indicación terapéutica original está orientada a SNC, es posible que su administración deba condicionarse si los beneficios superan a los potenciales efectos neurológicos que se puedan presentar. Además, esta molécula presenta una unión a CYP51 como se muestra en la Figura 38, esto determinado por medio del docking molecular, por consiguiente, supone una posible inhibición hacia la diana, teniendo así un fármaco con el cual se pudiera tratar la tuberculosis mediante el reposicionamiento de fármacos.

#### 4.2.4 Codeína

La codeína (Figura 39) es un fármaco con una buena EA hacia CYP51, este fármaco está indicado para aliviar dolores fuertes además de síntomas de tos, esta molécula pertenece a los opiáceos, los cuales pueden llegar a presentar una adicción al paciente y es muy frecuente la muerte por sobredosis, de igual manera se presentan más efectos adversos indeseables como lo son confusión, somnolencia, respiración superficial, pupilas contraídas, náuseas, vómitos, estreñimiento y falta de apetito (118), este fármaco puede ser muy peligroso para utilizarlo como tratamiento.

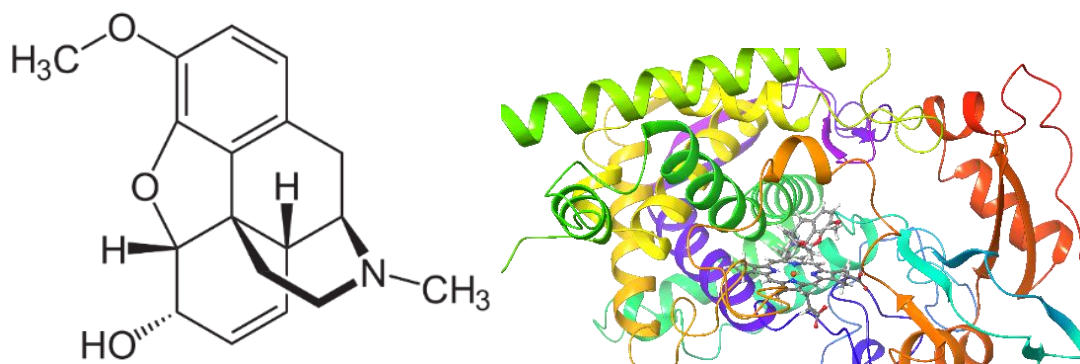


Figura 39. Estructura de la codeína y superposición en CYP51.

En la Figura 39 se puede observar la superposición de la codeína en CYP51 esto quiere decir que existe una unión específica en la diana encontrándose en el sitio activo pudiendo tener una inhibición, sin embargo una de las principales razones por las cuales descartamos el uso de la codeína como tratamiento para *M. tuberculosis* es debido a su efecto adictivo, por el cual los pacientes pueden tener un síndrome de abstinencia al dejar de consumir el fármaco, aunque haya presentado una buena EA y sea una molécula con un tamaño adecuado, los efectos secundarios que esta posee son totalmente graves para la salud de las personas pudiendo provocar la muerte de los pacientes.

#### 4.2.5 Mianserina

Finalmente, el fármaco mianserina (Figura 40) utilizado como un antidepresivo aprobado en varios países, su mecanismo de acción se encuentra en el bloqueo de los receptores adrenérgicos  $\alpha_2$  presinápticos asociado con un aumento de la neurotransmisión noradrenérgica (119).

Presenta efectos adversos tales como somnolencia y problemas hematológicos, delirio, hipotonía, acatisia, retención urinaria, aumento de peso, euforia, parálisis, espasmos, los cuales pueden ser de cierto riesgo para el paciente, debido a esto se debe tener especial cuidado y mantener una farmacovigilancia adecuada para poder ser utilizado como tratamiento de Mtb (117).

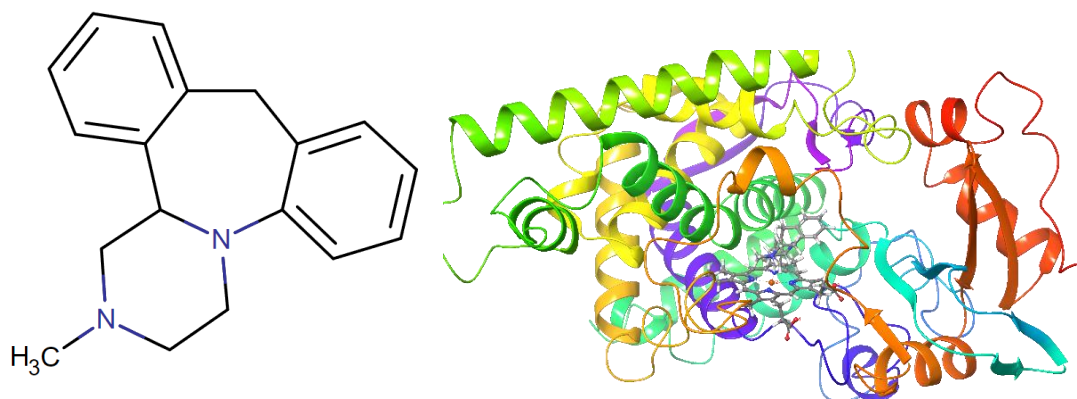
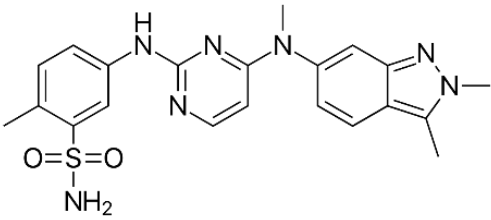
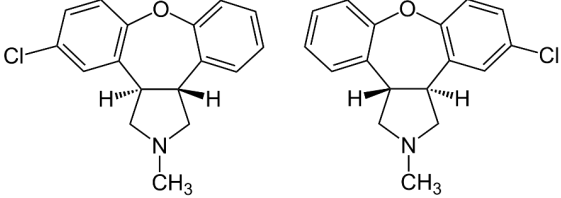
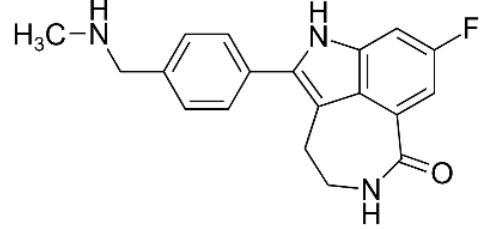
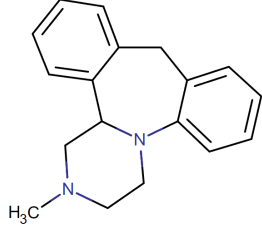


Figura 40. Estructura de la mianserina y superposición en CYP51.

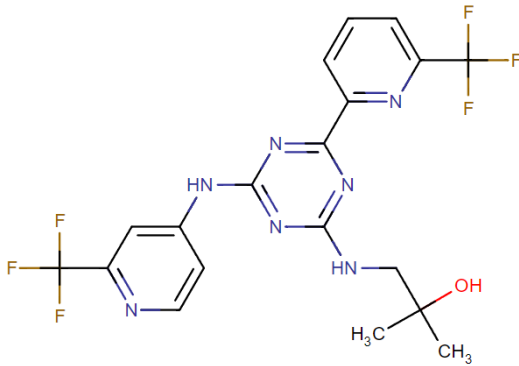
Se analizaron todas las características de este fármaco, como primera parte tenemos que la mianserina es una molécula con un peso molecular de 264.4 g/mol lo que la ubica en segunda posición en cuanto a la clasificación de moléculas de menor tamaño, su EA es menor pero se ha encontrado relación con las CYP debido a su estructura ya que está involucrada en las principales rutas metabólicas de los enantiómeros de mianserina en humanos (120), además los efectos secundarios suelen ser pasajeros y no provoca problemas de salud más serios como es el caso del fármaco desvenlafaxina que puede provocar trombocitopenia en algunos pacientes, finalmente este fármaco cumple con todos los criterios (L, G y V) los cuales son fundamentales para la selección de nuestras moléculas. Mianserina es un fármaco óptimo para el reposicionamiento *in silico* de CYP51 contra *M. tuberculosis*, además se observa mediante el análisis de docking molecular que este fármaco reposicionado se encuentra específicamente en el sitio activo, demostrando una posible inhibición para esta diana y posible tratamiento de tuberculosis.

Por último, haciendo una comparativa con toda la información proporcionada anteriormente se obtuvieron los fármacos ideales para el reposicionamiento tanto en CDK2 para CaCU y CYP51 para *M. tuberculosis*, estos se representan en la Tabla 3. Moléculas seleccionadas para reposicionamiento de fármacos.

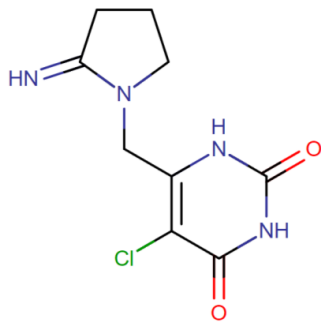
Tabla 3. Moléculas seleccionadas para reposicionamiento de fármacos.

CDK2	CYP51
<p data-bbox="467 1276 604 1312">Pazopanib</p>  <p>The chemical structure of Pazopanib consists of a central pyridine ring. One nitrogen atom of the pyridine is substituted with a methyl group. The other nitrogen atom is substituted with a 4-(aminosulfonyl)phenyl group. The 2-position of the pyridine ring is substituted with a 1-methyl-4-(methyl-1H-imidazol-2-yl)phenyl group.</p>	<p data-bbox="1068 1276 1205 1312">Asenapina</p>  <p>The chemical structure of Asenapina is a bicyclic system. It features a central 5-membered ring containing a nitrogen atom substituted with a methyl group. This ring is fused to two 6-membered rings, one of which contains an oxygen atom. Two chlorine atoms are attached to the 6-membered rings at the 2 and 6 positions.</p>
<p data-bbox="467 1581 604 1617">Rucaparib</p>  <p>The chemical structure of Rucaparib is a complex polycyclic system. It features a central benzimidazole ring system. One of the nitrogen atoms of the benzimidazole is substituted with a methyl group. The other nitrogen atom is substituted with a 4-(methylamino)phenyl group. The 2-position of the benzimidazole ring is substituted with a 1-methyl-4-(methyl-1H-imidazol-2-yl)phenyl group.</p>	<p data-bbox="1068 1581 1205 1617">Mianserina</p>  <p>The chemical structure of Mianserina is a tricyclic system. It features a central 6-membered ring containing a nitrogen atom substituted with a methyl group. This ring is fused to two 5-membered rings, one of which contains a nitrogen atom. The other 5-membered ring is fused to a 6-membered ring.</p>

Enasidenib



Tipiracil



Estos fármacos son los más adecuados para el reposicionamiento debido a que todos estos son utilizados para tratar ciertos tipos de cáncer, además mantienen interacción en la diana y las energías de acoplamiento fueron superiores. Así como también el obtener más de 2 moléculas representa mayores oportunidades de encontrar tratamientos contra el cáncer cervical.

En cuanto al tratamiento para tuberculosis se presentan estas dos moléculas como propuesta para reposicionamiento de fármacos debido a que la similitud estructural es importante, así como también la energía de acoplamiento que presentan en la diana, hace que estos fármacos obtengan cierta ventaja en comparación con los demás. Pueden ser tratamientos innovadores, los efectos secundarios pueden o no presentarse, además con una adecuada farmacovigilancia pueden ser mejores los beneficios que puedan presentar. Es importante obtener más de una molécula para obtener mayores opciones de tratamientos.

## 5 Conclusión

El reposicionamiento de fármacos es una estrategia ideal para reutilizar moléculas que ya fueron aprobadas y estudiadas en nuevos objetivos farmacológicos, con el fin de nuevas soluciones terapéuticas para diversas enfermedades de interés.

Con respecto a los resultados obtenidos se determinó que los fármacos pazopanib, rucaparib, enasidenib y el tipiracil dirigidos como inhibidores de la tirosina quinasa, manteniendo la existencia de energías de acoplamiento superiores en contra de CDK2 en comparación al fármaco de referencia flavopiridol.

Además de ser candidatos ideales para reposicionarlos en contra de esta proteína, en cuanto a los efectos adversos se observan solo de grado I por lo que se puede establecer una farmacovigilancia mostrando más beneficios en su administración. Asimismo, cumplen también con los criterios farmacocinéticos de Lipinski y Ghose, por lo que estas moléculas son esenciales para la administración vía oral. Finalmente se determinó que son fármacos ideales para el tratamiento de CaCU, y que pueden llegar a demostrar una inhibición en contra de CDK2.

En cuanto a este estudio se determinó que los fármacos asenapina y mianserina que son antipsicóticos poseen una mayor energía de acoplamiento comparada con el fármaco de referencia ketoconazol, por lo que poseen una mayor probable inhibición para CYP51, además cumplen con los criterios de Lipinski, Ghose y Veber para la administración de fármacos por vía oral, es decir las características de la molécula son ideales ya que presenta un tamaño pequeño y adecuado, estos fármacos son ideales para el reposicionamiento de tratamiento contra *M. tuberculosis* y la diana CYP5.

Con estos resultados, se concluye que el reposicionamiento de fármacos es esencial para el descubrimiento de nuevas moléculas en contra de enfermedades de interés como el cáncer y la tuberculosis, siendo su posible evaluación utilizando estos datos y revisando su efectividad a niveles *in vitro* o *in vivo*.

## 6 Bibliografía

1. Andreas Papapetropoulos C, Papapetropoulos A, Szabo C. Inventing New Therapies Without Reinventing the Wheel: The Power of Drug Repurposing. *Br J Pharmacol*. 2018;165–7.
2. Park K. A review of computational drug repurposing. *Transl Clin Pharmacol*. 2019 Jun 1;27(2):59–63.
3. Poroikov V, Druzhilovskiy D. Drug Repositioning: New Opportunities for Older Drugs. In: *In Silico Drug Design*. Elsevier; 2019. p. 3–17.
4. Ishida J, Konishi M, Ebner N, Springer J. Repurposing of approved cardiovascular drugs. Vol. 14, *Journal of Translational Medicine*. BioMed Central Ltd.; 2016.
5. LEON SIRIA ROCIO. Reposicionamiento de fármacos como estrategia para la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas. Universidad de Sevilla. 2021.
6. Marovac J. Investigación y desarrollo de nuevos medicamentos: de la molécula al fármaco. *Rev Med Chil*. 2001 Jan;129(1).
7. Cha Y, Erez T, Reynolds IJ, Kumar D, Ross J, Koytiger G, et al. Drug repurposing from the perspective of pharmaceutical companies. *Br J Pharmacol*. 2018;175(2):168–80.
8. Nosengo N. Can you teach old drugs new tricks? *Nature*. *Nat Commun*. 2016;534:314–6.
9. Rodrigues R, Duarte D, Vale N. Drug Repurposing in Cancer Therapy: Influence of Patient's Genetic Background in Breast Cancer Treatment. *Int J Mol Sci*. 2022 Apr 14;23(8):4280.
10. Hanahan D. Hallmarks of Cancer: New Dimensions. *Cancer Discov*. 2022 Jan 1;12(1):31–46.
11. Orecchioni S, Roma S, Raimondi S, Gandini S, Bertolini F. Identifying Drug Repurposing Opportunities in Oncology. *The Cancer Journal*. 2019 Mar;25(2):82–7.
12. Pushpakom S, Iorio F, Eyers PA, Escott KJ, Hopper S, Wells A, et al. Drug repurposing: progress, challenges and recommendations. *Nat Rev Drug Discov*. 2019 Jan 12;18(1):41–58.
13. Olgen S, Kotra LP. Drug Repurposing in the Development of Anticancer Agents. *Curr Med Chem*. 2019 Oct 25;26(28):5410–27.
14. Michael D., Iseman MD. Treatment of multidrug-resistant tuberculosis. *N Engl J Med*. 1993;329:784–91.

15. Ugarte-Gil C, Ponce Alvarez M, Moore DAJ. Pruebas de sensibilidad para Mycobacterium tuberculosis Drug susceptibility tests for Mycobacterium tuberculosis. Vol. 25, Acta Med Per. 2008.
16. Villafuerte Reinante J, Hernández Guerra Y, Elisa Ayala Reina Z, Naranjo Hernández L, Ángel González Alonso J, Brito Méndez M. Aspectos bioquímicos y factores de riesgo asociados con el cáncer cervicouterino. Revista Finlay. 2019;9:21–32.
17. Mabel Sureda Peña L, Dialeidys Martínez Cárdenas D. Una alerta para la mujer: factores de riesgo del cáncer cervicouterino. Medicent Electrón. 2014;18(1):36–8.
18. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. CA Cancer J Clin. 2021 May 4;71(3):209–49.
19. Santamarina Fernández A, Damaris ;, Tamayo V, Misleidis ;, Fajardo S, Santamarina Fernández M, et al. Evaluación del Programa Nacional de Diagnóstico Precoz del Cáncer Cérvicouterino en Bartolomé Masó Márquez. Rev Cubana Enferm. 2016;32(3):404–11.
20. Arbyn M, Weiderpass E, Bruni L, de Sanjosé S, Saraiya M, Ferlay J, et al. Estimates of incidence and mortality of cervical cancer in 2018: a worldwide analysis. Lancet Glob Health. 2020 Feb 1;8(2):e191–203.
21. Pilleron S, Cabasag CJ, Ferlay J, Bray F, Luciani S, Almonte M, et al. Cervical cancer burden in Latin America and the Caribbean: Where are we? Int J Cancer. 2020 Sep 15;147(6):1638–48.
22. Mahantshetty U, Lavanya G, Grover S, Akinfenwa CA, Carvalho H, Amornwichee N. Incidence, Treatment and Outcomes of Cervical Cancer in Low- and Middle-income Countries. Clin Oncol. 2021 Sep 1;33(9):e363–71.
23. Ferlay JSHBFMCPD. GLOBOCAN 2008, cancer incidence and mortality worldwide: IARC CancerBase no.10. WHO. 2008;1(1):1–3.
24. Torreglosa-Hernández S, Grisales-Romero H, Morales-Carmona E, Hernández-Ávila JE, Huerta-Gutiérrez R, Barquet-Muñoz SA, et al. Supervivencia y factores asociados en pacientes con cáncer cervicouterino atendidas por el Seguro Popular en México. Salud Publica Mex. 2022;64(1):76–86.
25. Hernández-Hernández DM, Apresa-García T, Patlán-Pérez RM. Panorama epidemiológico del cáncer cervicouterino. Rev Med Inst Mex Seguro Soc. 2018 Aug 7;53:154–61.
26. Piñeros M, Laversanne M, Barrios E, de Camargo Cancela M, de Vries E, Pardo C, et al. The Global Cancer Observatory. International Agency for Research on Cancer. Mexico Source: Globocan 2020. Ginebra: World Health Organization, 2021. The Lancet Regional Health . 2020;13.

27. Zaldívar Lelo de Larrea G, Martín Molina F, Francisco Sosa Ferreyra C, Ávila Morales J, Lloret Rivas M, Román Lara M, et al. Cáncer cérvicouterino y virus del papiloma humano. *Rev Chil Obstet Ginecol.* 2012;77(4):315–21.
28. Serman F. Cáncer cervicouterino: Epidemiología, historia natural y rol del virus papiloma humano. *Perspectivas en prevención y tratamiento. REV CHIL OBSTET GINECOL.* 2002;67(4):318–23.
29. NASIELL K, ROGER V, NASIELL M. Behavior of Mild Cervical Dysplasia During Long-Term Follow-up. *Obstetrics & Gynecology.* 1986 May;67(5):665–9.
30. Marzo-Castillejo M, Vela-Vallespín C, Bellas-Beceiro B, Bartolomé-Moreno C, Ginés-Díaz Y, Melús-Palazón E. PAPPS Cancer Expert Group. Cancer Prevention Recommendations. 2020 PAPPS update. *Aten Primaria.* 2020 Nov 1;52(2):44–69.
31. Saavedra K, Brebi P, Roa JC. Epigenetic alterations in preneoplastic and neoplastic lesions of the cervix. *Clin Epigenetics.* 2012;4(13):1–7.
32. Mighty KK, Laimins LA. p63 Is Necessary for the Activation of Human Papillomavirus Late Viral Functions upon Epithelial Differentiation. *J Virol.* 2011 Sep;85(17):8863–9.
33. Lee H, Kimelman D. A Dominant-Negative Form of p63 Is Required for Epidermal Proliferation in Zebrafish. Vol. 2, *Developmental Cell.* 2002.
34. Wang HK, Duffy AA, Broker TR, Chow LT. Robust production and passaging of infectious HPV in squamous epithelium of primary human keratinocytes. *Genes Dev.* 2009 Jan 15;23(2):181–94.
35. Tavakolian S, Goudarzi H, Faghiloo E. Cyclin-dependent kinases and CDK inhibitors in virus-associated cancers. Vol. 15, *Infectious Agents and Cancer.* BioMed Central Ltd.; 2020. p. 1–12.
36. Mudhigeti N, Kalawat U, Hulikal N, Kante M. Evaluation of Loop-Mediated Isothermal Amplification Assay for Detection and Typing of Human Papilloma Virus 16 and 18 from Endocervical Samples. *Indian J Med Microbiol.* 2019 Apr;37(2):241–7.
37. Schwarz E, Freese UK, Gissmann L, Mayer W, Roggenbuck B, Stremlau A, et al. Structure and transcription of human papillomavirus sequences in cervical carcinoma cells. *Nature.* 1985 Mar;314(6006):111–4.
38. Ghittoni R, Accardi R, Hasan U, Gheit T, Sylla B, Tommasino M. The biological properties of E6 and E7 oncoproteins from human papillomaviruses. Vol. 40, *Virus Genes.* 2010. p. 1–13.
39. Álvarez Aldana A, Carlos Sepúlveda Arias MD J, Siller López F. Carcinogénesis inducida por el virus del papiloma humano. *Investigaciones Andina.* 2008;14(24):438–56.



40. Wentzensen N, Vinokurova S, von Knebel Doeberitz M. Systematic review of genomic integration sites of human papillomavirus genomes in epithelial dysplasia and invasive cancer of the female lower genital tract. Vol. 64, *Cancer Research*. 2004. p. 3878–84.
41. Mantovani F, Banks L. The Human Papillomavirus E6 protein and its contribution to malignant progression. *Oncogene*. 2001 Nov 26;20(54):7874–87.
42. Münger K, Basile JR, Duensing S, Eichten A, Gonzalez SL, Grace M, et al. Biological activities and molecular targets of the human papillomavirus E7 oncoprotein. *Oncogene*. 2001 Nov 26;20(54):7888–98.
43. Duensing S, Münger K. The Human Papillomavirus Type 16 E6 and E7 Oncoproteins Independently Induce Numerical and Structural Chromosome Instability1. *Cancer Res*. 2002 Dec 1;62(23):7075–82.
44. Duensing S, Münger K. Centrosome abnormalities, genomic instability and carcinogenic progression. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer*. 2001 Jan;1471(2):M81–8.
45. Cuevas-Martínez ML, Vega-Pérez ML, Tamez-Rodríguez AR, Castañeda-Sánchez O. Factores de riesgo que retrasan la participación en el programa “Detección oportuna de cáncer cervicouterino.” *Atención Familiar*. 2016 Oct;23(4):134–8.
46. Hill EK. Updates in Cervical Cancer Treatment. *Clin Obstet Gynecol*. 2020 Mar;63(1):3–11.
47. Li H, Wu X, Cheng X. Advances in diagnosis and treatment of metastatic cervical cancer. *J Gynecol Oncol*. 2016;27(4).
48. Qu X, Zhu L, Song L, Liu S. circ-0084927 promotes cervical carcinogenesis by sponging miR-1179 that suppresses CDK2, a cell cycle-related gene. *Cancer Cell Int*. 2020 Jul 21;20(1):2–17.
49. Anscombe E, Meschini E, Mora-Vidal R, Martin MP, Staunton D, Geitmann M, et al. Identification and Characterization of an Irreversible Inhibitor of CDK2. *Chem Biol*. 2015 Sep 17;22(9):1159–64.
50. Malumbres M, Barbacid M. Cell cycle, CDKs and cancer: A changing paradigm. *Nat Rev Cancer*. 2009 Mar;9(3):153–66.
51. Tadesse S, Caldon EC, Tilley W, Wang S. Cyclin-Dependent Kinase 2 Inhibitors in Cancer Therapy: An Update. *J Med Chem*. 2019 May 9;62(9):4233–51.
52. Davies TG, Tunnah P, Meijer L, Marko D, Eisenbrand G, Endicott JA, et al. Inhibitor Binding to Active and Inactive CDK2. *Structure*. 2001 May;9(5):389–97.
53. Zhang J, Gan Y, Li H, Yin J, He X, Lin L, et al. Inhibition of the CDK2 and Cyclin A complex leads to autophagic degradation of CDK2 in cancer cells. *Nat Commun*. 2022 Dec;13(1):1–16.

54. Bonin S, Pracella D, Barbazza R, Dotti I, Boffo S, Stanta G. PI3K/AKT Signaling in Breast Cancer Molecular Subtyping and Lymph Node Involvement. *Dis Markers*. 2019;1:1–13.
55. Mok MT, Zhou J, Tang W, Zeng X, Oliver AW, Ward SE, et al. CCRK is a novel signalling hub exploitable in cancer immunotherapy. *Pharmacol Ther*. 2018 Jun 1;186:138–51.
56. Talapati SR, Nataraj V, Pothuganti M, Gore S, Ramachandra M, Antony T, et al. Structure of cyclin-dependent kinase 2 (CDK2) in complex with the specific and potent inhibitor CVT-313. *Acta Crystallogr F Struct Biol Commun*. 2020 Aug 1;76(8):350–6.
57. Abd El-Karim SS, Syam YM, el Kerdawy AM, Abdelghany TM. New thiazol-hydrazono-coumarin hybrids targeting human cervical cancer cells: Synthesis, CDK2 inhibition, QSAR and molecular docking studies. *Bioorg Chem*. 2019 May 1;86:80–96.
58. Barrière C, Santamaría D, Cerqueira A, Galán J, Martín A, Ortega S, et al. Mice thrive without Cdk4 and Cdk2. *Mol Oncol*. 2007 Jun;1(1):72–83.
59. Cortes Parra JC. Breve historia de la tuberculosis. *Revista medica de costa rica y centroamerica LXX*. 2013;1(5):145–50.
60. Ramos EP, Yanet L, Rodríguez R, Loyola MP, Ramos P, Rojas E, et al. La Tuberculosis a través de la Historia: un enemigo de la humanidad. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*. 2018;17(3):353–63.
61. Sigifredo Ospina. La tuberculosis, una perspectiva histórico-epidemiológica. *Revista de la asociación colombiana de infectología*. 2011;5.
62. Arturo Raúl Arévalo Barea, Heidy Alarcón Terán, Dory Esther Arévalo Salazar. Métodos diagnósticos en tuberculosis; lo convencional y los avances tecnológicos en el siglo XXI. *Rev Med la Paz*. 2015;21(1):75–85.
63. Alvarez-Cabrera N, Fernández-Castillo S, Serpa-Almaguer D, Serrano-Hernández D, Zayas-Vignier C, Cabrera-Arias RA, et al. Avances en la caracterización de un proteoliposoma derivado de *Mycobacterium bovis* BCG como candidato vacunal contra la tuberculosis. *Vaccimonitor*. 2014;23(3):110–6.
64. Baddeley A, den Boon S, Dean A, Monica Dias H. Global Tuberculosis Report 2022. In: World Health Organization. 2022. p. 1–68.
65. Higueta-Gutierrez LF, Arango-Franco CA, Cardona-Arias JA. Factores de riesgo para la infección por tuberculosis resistente: Metanálisis de estudios de casos y controles. *Rev Esp Salud Pública*. 2018 Aug 7;92:2–13.
66. Contreras Maza RG. Incidencia de tuberculosis en pacientes con psoriasis que reciben terapias anti- TNF- alfa en Latinoamérica: revisión sistemática y metaanálisis. *Anales de la Facultad de Medicina*. 2019 Mar 27;80(1):73–8.

67. Rendon A, Centis R, D'Ambrosio L, Migliori GB. Estrategias de la OMS para el tratamiento de la tuberculosis resistente. *Arch Bronconeumol*. 2017 Mar;53(3):95–7.
68. Stewart T. C. Comparative and functional genomics of the *Mycobacterium tuberculosis* complex. *Microbiology (N Y)*. 2002;148:2919–28.
69. Mclean KJ, Dunford AJ, Sabri M, Neeli R, Girvan HM, Balding PR, et al. CYP121, CYP51 and associated redox systems in *Mycobacterium tuberculosis*: towards deconvoluting enzymology of P450 systems in a human pathogen. *Biochemical Society Transaction*. 2006;34:1178–82.
70. Escolà-Vergé L, Los-Arcos I, Almirante B. New antibiotics for the treatment of infections by multidrug-resistant microorganisms. Vol. 154, *Medicina Clinica*. Ediciones Doyma, S.L.; 2020. p. 351–7.
71. Martínez-Martínez L, Calvo J. Desarrollo de las resistencias a los antibióticos: Causas, consecuencias y su importancia para la salud pública. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2010 Nov;28(4):4–9.
72. Shi R, Itagaki N, Sugawara I. Overview of Anti-Tuberculosis (TB) Drugs and Their Resistance Mechanism Chemistry. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*. 2007;7:1177–85.
73. Rawat R, Whitty A, Tonge PJ. The isoniazid-NAD adduct is a slow, tight-binding inhibitor of InhA, the *Mycobacterium tuberculosis* enoyl reductase: Adduct affinity and drug resistance. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2003;100(24):13881–6.
74. McCammon MT, Gillette JS, Thomas DP, Ramaswamy S v., Graviss EA, Kreiswirth BN, et al. Detection of *rpoB* mutations associated with rifampin resistance in *Mycobacterium tuberculosis* using denaturing gradient gel electrophoresis. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005 Jun;49(6):2200–9.
75. Wolucka BA, McNeil MR, de Hoffmann E, Chojnacki T, Brennan PJ. Recognition of the lipid intermediate for arabinogalactan/arabinomannan biosynthesis and its relation to the mode of action of ethambutol on mycobacteria. *Journal of Biological Chemistry*. 1994 Sep;269(37):23328–35.
76. Lety MA, Nair S, Berche P, Escuyer V. A Single Point Mutation in the *embB* Gene Is Responsible for Resistance to Ethambutol in *Mycobacterium smegmatis* Downloaded from. *Antimicrob Agents Chemother*. 1997;41(12):2629–33.
77. Karina Lopez Avila, Karla R. Dzul Rosado, Cesar Lugo Caballero, Juan J Arias Leon, Jorge E. Zavala Castro. Mecanismos de resistencia antifúngica de los azoles en *Candida albicans*. *Rev Biomed*. 2016;27:127–36.
78. Podust LM, von Kries JP, Eddine AN, Kim Y, Yermalitskaya L v., Kuehne R, et al. Small-Molecule Scaffolds for CYP51 Inhibitors Identified by High-Throughput

- Screening and Defined by X-Ray Crystallography. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007 Nov;51(11):3915–23.
79. Ortiz de Montellano PR. Potential drug targets in the *Mycobacterium tuberculosis* cytochrome P450 system. *J Inorg Biochem.* 2018 Mar 1;180:235–45.
  80. Macias Gutierrez Carolina Itzel, Ramirez Palomares José Luis, Loza Mejía Marco Antonio. Diseño de inhibidores de la C- 14 alfademetilasa (CYP51) basado en métodos quimioinformáticos y acoplamiento molecular para el tratamiento de la Coccidioidomicosis. *Revista de Investigación La Salle.* 2017;4(2):25–9.
  81. Lepesheva GI, Waterman MR. Sterol 14 $\alpha$ -demethylase cytochrome P450 (CYP51), a P450 in all biological kingdoms. *Biochim Biophys Acta Gen Subj.* 2007 Mar;1770(3):467–77.
  82. Bentley SD, Chater KF, Cerdeñ O-Tá Rraga AM, Challis GL, Thomson NR, James KD, et al. Complete genome sequence of the model actinomycete *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Nature.* 2002;417(9):141–7.
  83. Bellamine A, Mangla AT, David Nes W, Waterman MR. Characterization and catalytic properties of the sterol 14-demethylase from *Mycobacterium tuberculosis*. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1999;96:8937–42.
  84. Felpeto Santero C, Garcia Lopez JL, Perrera Gonzalez J. Producción de esteroides mediante ingeniería de citocromos. [Madrid]: Universidad Complutense de Madrid; 2017.
  85. Fica C. A. Tratamiento de infecciones fúngicas sistémicas Primera parte: fluconazol, itraconazol y voriconazol. *Rev Chil Infect.* 2004;21(1):26–38.
  86. Sheehan DJ, Hitchcock CA, Sibley CM. Current and Emerging Azole Antifungal Agents. *Clin Microbiol Rev.* 1999 Jan;12(1):40–79.
  87. Georgopapadakou NH. Antifungals: mechanism of action and resistance, established and novel drugs. *Curr Opin Microbiol.* 1998 Oct;1(5):547–57.
  88. Podust LM, Poulos TL, Waterman MR. Crystal structure of cytochrome P450 14-sterol demethylase (CYP51) from *Mycobacterium tuberculosis* in complex with azole inhibitors. *PNAS March.* 2001;13(6):3068–73.
  89. Guardiola-Diaz HM, Foster LA, Mushrush D, Vaz ADN. Azole-antifungal binding to a novel cytochrome P450 from *Mycobacterium tuberculosis*: implications for treatment of tuberculosis. *Biochem Pharmacol.* 2001;61:1463–70.
  90. Mullan Z. New class of drugs provides hope for future of tuberculosis treatment. *The Lancet.* 2000 Jun;355(9222):2223.

91. Wallace RJ, Brown-Elliott BA, Ward SC, Crist CJ, Mann LB, Wilson RW. Activities of Linezolid against Rapidly Growing Mycobacteria. *Antimicrob Agents Chemother*. 2001 Mar;45(3):764–7.
92. Letvin NL. Prospects for Vaccines to Protect Against AIDS, Tuberculosis, and Malaria. *JAMA*. 2001 Feb 7;285(5):606.
93. Ramos RG, Lado Lado FL, Bastida VT, Pérez ML, Bernal DM, Cabarcos A, et al. Tratamiento actual de la tuberculosis. *AN MED INTERNA (Madrid)*. 2003;20(2):91–100.
94. Wishart DS, Knox C, Guo AC, Cheng D, Shrivastava S, Tzur D, et al. DrugBank: a knowledgebase for drugs, drug actions and drug targets. *Nucleic Acids Res*. 2008 Jan;36(Database issue):D901-6.
95. Harding SD, Armstrong JF, Faccenda E, Southan C, Alexander SPH, Davenport AP, et al. The IUPHAR/BPS guide to PHARMACOLOGY in 2022: curating pharmacology for COVID-19, malaria and antibacterials. *Nucleic Acids Res*. 2022;50(D1):D1282–94.
96. Carrasco-Carballo A, Mendoza-Lara DF, Rojas-Morales JA, Alatríste V, Merino-Montiel P, Luna F, et al. In silico Study of Coumarins Derivatives With Potential Use in Systemic Diseases. *Biointerface Res Appl Chem*. 2023 Jun 15;13(3).
97. Wiernik PH. Alvocidib (flavopiridol) for the treatment of chronic lymphocytic leukemia. *Expert Opin Investig Drugs*. 2016 Jun 2;25(6):729–34.
98. Strushkevich N, Usanov SA, Park HW. Structural basis of human CYP51 inhibition by antifungal azoles. *J Mol Biol*. 2010;397(4):1067–78.
99. Burley SK, Bhikadiya C, Bi C, Bittrich S, Chen L, Crichlow G v, et al. RCSB Protein Data Bank: powerful new tools for exploring 3D structures of biological macromolecules for basic and applied research and education in fundamental biology, biomedicine, biotechnology, bioengineering and energy sciences. *Nucleic Acids Res*. 2021 Jan 8;49(D1):D437–51.
100. Talapati SR, Nataraj V, Pothuganti M, Gore S, Ramachandra M, Antony T, et al. Structure of cyclin-dependent kinase 2 (CDK2) in complex with the specific and potent inhibitor CVT-313. *Acta Crystallogr F Struct Biol Commun*. 2020 Aug 1;76(8):350–6.
101. Podust LM, von Kries JP, Eddine AN, Kim Y, Yermalitskaya L v., Kuehne R, et al. Small-Molecule Scaffolds for CYP51 Inhibitors Identified by High-Throughput Screening and Defined by X-Ray Crystallography. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007 Nov;51(11):3915–23.
102. Halgren TA, Murphy RB, Friesner RA, Beard HS, Frye LL, Pollard WT. Glide: A New Approach for Rapid, Accurate Docking and Scoring. 2. Enrichment Factors in Database Screening. *J Med Chem*. 2004;47(7):1750–9.

103. Shapiro GI. Preclinical and Clinical Development of the Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor Flavopiridol. *Clinical Cancer Research*. 2004 Jun 15;10(12):4270s–5s.
104. Kumar R, Harrington LE, Hopper TM, Miller CG, Onori JA, Cheung M, et al. Correlation of anti-tumor and anti-angiogenic activity of VEGFR inhibitors with inhibition of VEGFR2 phosphorylation in mice. *Journal of Clinical Oncology*. 2005 Jun;23(16\_suppl):9537–9537.
105. LaPlant KD, Louzon PD. Pazopanib: An oral multitargeted tyrosine kinase inhibitor for use in renal cell carcinoma. *Annals of Pharmacotherapy*. 2010 Jun;44(6):1054–60.
106. Lee ATJ, Jones RL, Huang PH. Pazopanib in advanced soft tissue sarcomas. Vol. 4, *Signal Transduction and Targeted Therapy*. Springer Nature; 2019. p. 1–10.
107. McAninch JW, Campbell PM. Primary vesicoureteral reflux in adult patients. *Urology*. 1973 Oct;2(4):393–5.
108. Lorusso D, García-Donas J, Sehouli J, Joly F. Management of Adverse Events During Rucaparib Treatment for Relapsed Ovarian Cancer: A Review of Published Studies and Practical Guidance. *Target Oncol*. 2020 Jun 1;15(3):391–406.
109. Medeiros BC, Fathi AT, DiNardo CD, Pollyea DA, Chan SM, Swords R. Isocitrate dehydrogenase mutations in myeloid malignancies. *Leukemia*. 2017 Feb 10;31(2):272–81.
110. Sweta J, Khandelwal R, Srinitha S, Pancholi R, Adhikary R, Ali MA, et al. Identification of High-Affinity Small Molecule Targeting IDH2 for the Clinical Treatment of Acute Myeloid Leukemia. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 2019 Aug 1;20(8):2287–97.
111. Kish T, Uppal P. Trifluridine/Tipiracil (Lonsurf) for the Treatment of Metastatic Colorectal Cancer. *P T*. 2016 May;41(5):314–25.
112. Bickerton GR, Paolini G v., Besnard J, Muresan S, Hopkins AL. Quantifying the chemical beauty of drugs. *Nat Chem*. 2012 Feb 24;4(2):90–8.
113. Nicoleta Sonino MD. The use of ketoconazole as an inhibitor of steroid production. *N Engl J Med*. 1987;317(13):812–8.
114. Akln O, Yavuz ST, Hacihamdioğlu B, Sarl E, Gürsel O, Yeşilkaya E. Anaphylaxis to gonadorelin acetate in a girl with central precocious puberty. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism*. 2015 Nov 1;28(11–12):1387–9.
115. Low Y, Setia S, Lima G. Drug–drug interactions involving antidepressants: Focus on desvenlafaxine. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2018 Feb 19;14:567–80.
116. Citrome L. Role of sublingual asenapine in treatment of schizophrenia. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2011 May;325.

117. Filimonov D.A., Lagunin A.A, Glorizova T.A., Rudik A.V., Druzhilovskii D.S., Pogodin P.V., et al. Prediction of the biological activity spectra of organic compounds using the PASS online web resource. *Chemistry of Heterocyclic Compounds. PASS Online*. 2014. p. 444–57.
118. Bhandari M, Bhandari A, Bhandari A. Recent updates on codeine. *Pharm Methods*. 2011 Jan;2(1):3–8.
119. Yang M, Liu S, Hu L, Zhan J, Lei P, Wu M. Effects of the antidepressant, mianserin, on early development of fish embryos at low environmentally relevant concentrations. *Ecotoxicol Environ Saf*. 2018 Apr 15;150:144–51.
120. Koyama E, Chiba K, Tani M, Ishizaki T. Identification of human cytochrome P450 isoforms involved in the stereoselective metabolism of mianserin enantiomers. *J Pharmacol Exp Ther*. 1996 Jul;278(1):21–30.