

**ACOPLAMIENTO MOLECULAR: UNA HERRAMIENTA
COMPUTACIONAL PARA EL ESTUDIO DE COMPLEJOS
QUIMIOTERAPEUTICOS ANTICANCEROSOS BASADOS EN
PALADIO (II)**

JOSÉ DAVID ARRIETA GALINDO



**UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**

**GRUPO DE QUÍMICA COMPUTACIONAL (GQC)
LINEA DE INVESTIGACIÓN: DISEÑO DE FARMACOS**

MONTERÍA

2020

**ACOPLAMIENTO MOLECULAR: UNA HERRAMIENTA
COMPUTACIONAL PARA EL ESTUDIO DE COMPLEJOS
QUIMIOTERAPEUTICOS ANTICANCEROSOS BASADOS EN
PALADIO (II)**

**PROYECTO PRESENTADO PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO**

JOSÉ DAVID ARRIETA GALINDO

DIRECTOR

JESUS MANUEL LÓPEZ OCHOA

M. Sc. QUÍMICAS

CODIRECTOR

ADOLFO ENSUNCHO MUÑOZ

M. Sc. QUÍMICAS

UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

GRUPO DE QUÍMICA COMPUTACIONAL (GQC)

LINEA DE INVESTIGACIÓN: DISEÑO DE FARMACOS

MONTERÍA

2020

AGRADECIMIENTOS

Agradezco primeramente a nuestro creador, por haberme mantenido con el suficiente equilibrio emocional y físico durante todo este proceso de aprendizaje y además por haberme colmado de su gracia y misericordia cada día.

A mis padres Dennis y Nerys, por ser mi principal motivación sin ellos nada de esto hubiera tenido sentido.

A mis hermanos, Martín, Katrina, Soraya, Lilibian, Angélica, Denis y Dania, porque de alguna u otra forma estuvieron acompañándome en este proceso.

A Salma Saibis, por haberme abierto las puertas de su hogar.

A todos los profesores del departamento de química por haberme enseñado todo lo que sé, me llevé lo mejor de cada uno. Y en especial a Profesor y amigo Adolfo Enzuncho Muños, por haberme dado la oportunidad de ingresar al grupo de química computacional al que convertí en mi segunda casa. ¡Por todos sus consejos y ayudas gracias de corazón profe!

A los profesores Jesús Manuel López Ochoa y Walter Cuadro Bautista, que más que ser nuestros mentores en GQC, se convirtieron en nuestros padrinos y amigos. Su ayuda fue indispensable para culminar este proceso.

A mis grandes amigos, Gerson Vélez y Cristian Guerra por estar en la buenas y en las malas.

A mis demás amigos y amigas, Karina Martínez, Danny Caraballo, Lina Rivero, Berónica Ramírez, José Almario, Rafa Miranda, Alicia Plaza, Catalina Aguirre, Yuveidys Chamorro, Sandy Petro, William “el pan”, con los que compartir muchos momentos gratos de mi vida y en general a todas las personas que deje en este largo camino.

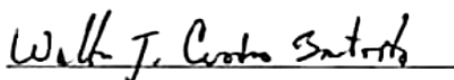
Finalmente dedico estas páginas a mi sobrino Dilan que amo con el alma y a la memoria de mi sobrino Mauricio Dueñas (Q.E.P.D).

NOTA DE ACEPTACIÓN

ACOPLAMIENTO MOLECULAR: UNA HERRAMIENTA COMPUTACIONAL PARA EL ESTUDIO DE COMPLEJOS QUIMIOTERAPEUTICOS ANTICANCEROSOS BASADOS EN PALADIO (II).

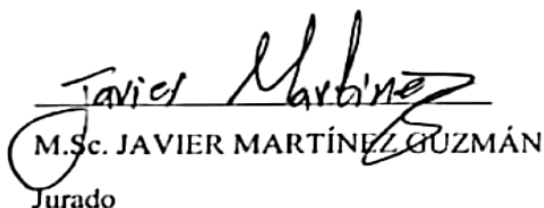
Realizado por el estudiante:

JOSÉ DAVID ARRIETA GALINDO, identificado con el numero de cedula 1.065.007.702 de Cereté; que cumple con los requisitos exigidos por la Facultad de Ciencias Básicas para optar por el título de Químico y ha sido aprobado.



M.Sc. Walter José Cuadro Bautista

Jurado



M.Sc. JAVIER MARTÍNEZ GUZMÁN

Jurado

Montería – Córdoba

TABLA DE CONTENIDO

LISTA DE FIGURAS.....	1
LISTA DE TABLAS.....	2
RESUMEN	3
ABSTRACT.....	4
INTRODUCCIÓN	5
OBJETIVOS.....	7
CAPITULO I: ACOPLAMIENTO MOLECULAR	8
1.1 Generalidades.....	8
1.2 Definición	8
1.3 Tipos de Acoplamiento Molecular.....	9
1.3.1 Acoplamiento rígido.....	10
1.3.2 Acoplamiento flexible	11
1.4 Algoritmos de Búsqueda	12
1.4.1 Emparejamiento rápido de forma (SM).....	13
1.4.2 Construcción Incremental (IC).....	13
1.4.3 Simulación de Monte Carlo (MC).....	14
1.4.4 algoritmo genético (GA)	15
1.5 Funciones de Puntuación	15
1.5.1 Funciones de puntuación basadas en la física	17
1.5.2 Funciones de puntuación empíricas	18
1.5.3 Funciones de puntuación basadas en conocimientos.	18
1.6 Software para Acoplamiento Molecular.....	19
1.7 Limitaciones	21
CAPITULO II: COMPLEJOS METÁLICOS CON ACTIVIDAD ANTICANCEROSA.....	23

2.1	Generalidades.....	23
2.2	Complejos de Platino.	23
2.3	Complejos de Rutenio (II).	28
2.4	Complejo de Oro (III).....	31
2.4.1	Complejos N-C.	31
2.5	Complejos de Cobre.	35
2.5.1	Generalidades.....	35
2.5.2	Sistemas κ^2 -N, S de Tiosemicarbazonas (TSCs).	36
2.5.3	Sistemas κ^3 -N, O, S.	37
2.5.4	Sistemas donadores de κ^2 -O, O.....	38
2.5.5	Complejos de cobre como inhibidores del proteosoma.....	39
CAPITULO III: ACOPLAMIENTO MOLECULAR DE COMPLEJOS DE PALADIO		41
3.1	Generalidades.....	41
3.2	Complejos de paladio con ligandos de nitrógeno (N).....	42
3.3	Complejos de paladio con ligando de oxígeno (O).....	45
3.4	Complejos de paladio di y trinucleares	47
CONCLUSIONES.....		53
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS		55

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Elementos necesarios para el acoplamiento molecular ¹⁸	9
Figura 2. Enfoques principales para el acoplamiento molecular: A) cuerpo rígido y B) ajuste inducido o flexible ²⁰ .-----	10
Figura 3. Resumen de las principales características para cada tipo de acoplamiento ⁵⁸ .-----	11
Figura 4. Métodos de búsqueda conformacional de moléculas pequeñas ¹³ .-----	12
Figura 5. clasificación de las funciones de puntuación para el acoplamiento de proteínas y ligandos ²² .----	16
Figura 6. descripción de las funciones de puntuación basada en la física ²² -----	17
Figura 7. Ejemplo del complejo de transtirretina con tiroxina (T4), perteneciente a una rata PDB(1IE4) ³⁴ -----	22
Figura 8. Isómeros geométricos cis y trans del cisplatino ³⁷ -----	24
Figura 9. complejos carboplatino y oxaliplatino ³⁸ -----	25
Figura 10. Estructura molecular del complejo de Pt (II) ³⁹ .-----	26
Figura 11. Ubicación de unión del complejo Pt (II) en HSA (a); representación del complejo Pt (II) y los residuos de aminoácidos de HSA en la ubicación de unión (b) ³⁹ -----	26
Figura 12. a Ubicación de unión del complejo Pt (II) en Hb, b representativa del complejo Pt (II) y residuos de aminoácidos de Hb en la ubicación de unión, y distancia entre el complejo Pt (II) y el Trp 37 de Hb ³⁹ .--	27
Figura 13. Estructura química de NAMI-A y KP1019.-----	28
Figura 14. Complejos anticancerígenos de rutenio representativos (η^6 -areno) ³⁸ .-----	29
Figura 15. Ruta síntesis del ligando y los complejos ⁴² .-----	29
Figura 16. Modelos de acoplamiento moleculares de los complejos 1(a), 2(b) y 3(c) con ADN. Los enlaces de hidrógeno entre los complejos y el ADN están marcados con líneas discontinuas rojas.-----	30
Figura 17. Complejos cicloaurados de estructura en forma de pinza C-N ³⁸ .-----	31
Figura 18. Geometría optimizada por DFT del ligando (a) y el complejo Au (III) (b) ⁴⁶ .-----	32
Figura 19. (a) Frotis que muestra células EAC maduras con estructura definida y membrana celular clara sin degeneración, (b) células tumorales EAC tratadas con complejo Au (III), muestran ampollas y desintegración de la membrana, (c) células EAC tratadas con Complejo de Au (III) que muestra sangrado y posterior destrucción de la membrana ⁴⁶ .-----	33
Figura 20. posición de unión posible del ligando libre (a) y el complejo de Au (III) (b) en la doble hélice de ADN.-----	34
Figura 21. posición de la posible unión del ligando libre (a) y el complejo metálico Au (III) (b) en la BSA de nuestro análisis de acoplamiento molecular.-----	35
Figura 22. (a–d) Complejos de cobre de ligandos bidentados κ^2 -N, S-TSC derivado de 2-hidroxi-8-propil-triciclo [7.3.1.0.2,7]tridecano-13-ona; (e) complejos de cobre de ligandos bidentados κ^2 -NS-TSCs derivados de cuminaldehído (p-isopropil benzaldehído) ⁴⁸ .-----	36
Figura 23. estructura de los complejos de cobre (23a-h) de los ligandos TSC de 5-formiluracilo.-----	37
Figura 24. Estructura de los complejos (a) [Cu(L)Cl(MeOH)]Cl, (b) [Cu(L)Cl]-(MeOH), y (c) [Cu(L)NO ₃]. -----	38

Figura 25. Estructura de los complejos de cobre (II) plumbagina (HL20).	39
Figura 26. Estructura de (a) complejo de cobre DTC de pirrolidina 14b y (b) complejos de cobre DTC de sarcosina, con esteres de etilo 15b ⁴⁸ .	40
Figura 27. Estructura del complejo tioxiotriazol de cobre (II).	40
Figura 28. Esquema de las vías celulares implicadas en la inhibición del proteosoma inducida por complejos de cobre. (a) Apoptosis desencadenada por complejos DTC de cobre (II). (b) Paraptosis causada por complejos de fosfina cobre (I) y tioxiotriazol cobre (II) ⁴⁸ .	41
Figura 29. Complejo de paladio derivados de piridina, quinolina, 1,10-fenantrolina ⁵² .	42
Figura 30. Representación ORTEP del complejo de Pd (II) base Schiff ⁵³ .	43
Figura 31. Ubicación del complejo de Pd(II) base Schiff y su interacción con HSA, los residuos de aminoácidos de HSA en el sitio de unión y sus grupos de acoplamiento ⁵³ .	43
Figura 32. Ubicación del complejo de Pd(II) base de Schiff en su interacción con el ADN, los pares de bases del ADN en el sitio de unión y sus grupos de acoplamiento ⁵³ .	44
Figura 33. Síntesis de ligandos O, O-bidentados 2a-f y sus complejos de paladio (II) 3a-f ⁵⁵ .	45
Figura 34. a) acoplamiento molecular de la 3c con el ADN, b) representación bidimensional de las interacciones ⁵⁵ .	46
Figura 35. a) Acoplamiento molecular de la 3c con BSA, b) Representación bidimensional de las interacciones ⁵⁵ .	47
Figura 36. Estructuras de los complejos heterodinucleares ⁵⁶ .	48
Figura 37. Acoplamiento molecular entre los complejos investigados y (A) el ADN con la brecha de intercalación (PDB ID 1Z3F); (B) ADN-B canónico (PDB ID 1BNA) ⁵⁶	49
Figura 38. Resultados del acoplamiento molecular para la proteína BSA con las mejores poses para los complejos PP1, PP2 y PP3 ⁵⁶ .	50
Figura 39. Estructura molecular del complejo de paladio trinuclear con su esquema de etiquetado de átomos ⁵⁷ .	51
Figura 40. (A) Acoplamiento molecular del complejo Pd con el lado del surco principal del ADN, (B) interacciones bidimensionales generadas por LIGPLOT ⁺ ⁵⁷ .	52
Figura 41. (A) El complejo de Pd se acopló en el bolsillo de unión de BSA (B) interacciones bidimensionales generadas por LIGPLOT ⁺ ⁵⁷ .	52

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Comparación de software de acoplamiento molecular ⁹	20
--	----

RESUMEN

El acoplamiento molecular ha tomado gran relevancia en investigaciones farmacológicas de complejos metálicos con capacidad anticancerosa. Tal es el caso para los compuestos metálicos de paladio (II) que han demostrado tener características similares a las del cisplatino y, por ende, resultados prometedores en investigaciones contra el cáncer. De acuerdo con esto, en esta revisión se estudió la funcionalidad del acoplamiento molecular en el diseño de complejos de paladio (II) con actividades citotóxicas prometedoras. Pudiendo establecer ventajas al compararlos con resto de los complejos estudiados. También, se dieron a conocer las bases teóricas del acoplamiento molecular *in silico*. En el que analizamos algoritmos de búsqueda, funciones de puntuación, paquetes computacionales de cálculo, etc. Lo anterior implicó una búsqueda exhaustiva en la literatura científica de toda la información referente a esta herramienta computacional, encontrando estudios teóricos-experimentales de una amplia variedad de compuestos de paladio, donde un complejo dinuclear, mostro un comportamiento farmacológico sobresaliente, con mejores afinidades de unión frente a los demás, con datos de acoplamiento y experimentales que lo respaldan. Al final, se pudo concluir que la elección del ligando es de gran importancia, ya que, sus características intrínsecas, les confieren estabilidad a los complejos sintetizados, como en el caso del complejo trinuclear sintetizado por Karami y colaboradores.

PALABRAS CLAVES: acoplamiento molecular, funciones de puntuación, algoritmos de búsqueda, complejos de paladio (II).

ABSTRACT

Molecular docking has become highly relevant in pharmacological investigations of metal complexes with anticancer capacity. Such is the case of metallic palladium (II) compounds that have been shown to have characteristics similar to those of cisplatin and, therefore, have promising results in anticancer research. Consequently, in this review the functionality of molecular docking in the study and design of palladium (II) complexes with promising cytotoxic activities was studied. Being able to establish advantages when comparing them with the rest of the studied complexes. Likewise, the theoretical bases of *in silico* molecular docking were disclosed. In which search algorithms, scoring functions, software, etc. are discussed. This involved an exhaustive search in the scientific literature for all the information regarding this computational tool, finding theoretical-experimental studies of a wide variety of palladium compounds, where a dinuclear complex with excellent pharmacological behavior was demonstrated, with better binding affinities. versus the others, with coupling and experimental data to back it up. In the end, it was possible to infer that the choice of the ligand is of great importance, since its intrinsic characteristics confer stability to the synthesized complexes, as is the case of the trinuclear complex synthesized by Karami et al.

KEY WORDS: molecular docking, scoring functions, search algorithms, palladium (II) complexes.

INTRODUCCIÓN

El desarrollo tecnológico en las últimas décadas se ha dado a pasos agigantados en la mayoría de las ciencias que conocemos, especialmente en las ciencias biomédicas y bioinformáticas. Esta última resulta de gran interés para este estudio, ya que, su desarrollo trajo consigo técnicas de visualización y modelado molecular, tales como: la dinámica molecular, los modelos QSAR, y el acoplamiento molecular. Siendo este último una de las herramientas más utilizadas por la comunidad científica en el desarrollo de compuestos candidatos a fármacos en los últimos años. Por lo que existe la necesidad de conocer como es el funcionamiento de esta importante herramienta computacional, en el marco, del estudio de nuevos compuestos metálicos anticancerosos.

En revisiones como, las realizadas por Chaudhary y colaboradores¹, se da una guía sobre el acoplamiento molecular y sus generalidades en el diseño de fármacos. Este trabajo muestra los elementos fundamentales de esta herramienta, donde se observan: algoritmos de búsqueda, funciones de puntuación y los tipos de acoplamiento. Pero no abarca la implementación de esta herramienta en el desarrollo de complejos metálicos.

Entre los que se resaltan el cis-diaminodicloroplatino (II) (cisplatino), complejo de coordinación que dio origen a la terapia contra cáncer empleando metales, gracias a las investigaciones desarrolladas por Rosenberg en la década de los sesenta. Esto a su vez generó gran interés por el desarrollo de nuevos complejos de Platino, Paladio y otros metales notables en el tratamiento contra el cáncer².

Así mismo, complejos como el derivado de la quinolina-2-carboxaldehído-2-piridilhidrazona, ligando selectivo hacia el Pd (II), fue evaluado experimentalmente mostrando excelentes resultados de citotoxicidad en células de cáncer de próstata humano, con una dosis subletal de 8 μ M, y un análisis de ciclo celular que muestra la detención de la fase G2/M y la apoptosis en las células cancerosas³. Hasta el momento este complejo no ha sido sometido a un estudio de modelado molecular. En consecuencia, en esta revisión se estudia la funcionalidad del acoplamiento molecular en estudios de complejos de paladio (II) con actividad anticancerosa, presentes en la literatura científica, desarrollando inicialmente, todo lo referente a sus bases teóricas, haciendo una descripción plena de cada elemento, que nos permita tener criterios en cuanto al análisis de investigaciones, luego de esto, conocer toda la familias de complejos anticancerosos similares al paladio, para tener

una amplia visión de las características estructurales y posteriormente analizar estudios donde se evalúen complejos de paladio candidatos a fármacos.

OBJETIVOS

❖ Objetivo general

- Estudiar la funcionalidad del acoplamiento molecular en el estudio y diseño de complejos metálicos basados en paladio (II), mediante la revisión y análisis de investigaciones teórico-experimentales realizadas con fines quimioterapéuticos, que permitan analizar las características y ventajas que nos ofrece esta herramienta.

❖ Objetivos específicos

- Conocer las bases teóricas del acoplamiento molecular, mediante consulta de literatura científica, con la que se resalte el funcionamiento de esta herramienta teórica, dentro del desarrollo del modelado de complejos moleculares.
- Analizar investigaciones de complejos metálicos anticancerosos similares al paladio, por medio de una revisión exhaustiva de los metales más representativos presentes en reportes científicos, que nos permitan determinar la función del acoplamiento molecular y sus ventajas en desarrollo de este tipo de trabajos.
- Estudiar el uso del acoplamiento molecular en el desarrollo de complejos metálicos anticancerosos basados en paladio (II), haciendo uso de reportes bibliográficos que permitan entender las características, ventajas y desventajas en la implementación de esta herramienta computacional en área del diseño de fármacos.

CAPITULO I: ACOPLAMIENTO MOLECULAR

1.1 Generalidades

El acoplamiento molecular es una técnica rápida y económica que en las últimas décadas se ha empleado ampliamente, tanto a nivel académico, como industrial. Esta disciplina se ha consolidado en los últimos años, aunque muchos aspectos todavía son un desafío y no existen rutas directas y precisas para la identificación de los verdaderos ligandos entre un conjunto de moléculas, ni para identificar con precisión la conformación correcta del ligando dentro de una diana biológica determinada.

Este método se ha incorporado a la investigación farmacéutica con éxito, debido a una gran variedad de programas para el estudio de sistemas biológicos y químicos complejos. Hoy en día, debido a la disponibilidad de una variedad de algoritmos de acoplamiento, la comprensión de las ventajas y limitaciones de cada método es de fundamental importancia en el desarrollo de estrategias efectivas y la generación de resultados relevantes ^{4,5}.

1.2 Definición

El acoplamiento molecular se define como una técnica computacional, que permite predecir la estructura de complejos intermoleculares que se establecen entre dos o más moléculas. Uno de los casos más estudiados con esta metodología es la interacción proteínas-ligandos, seguido de las interacciones proteína-proteína. Su principal objetivo es predecir energías y modos de enlace, y los estudios suelen hacerse con antelación a los ensayos experimentales.

Posteriormente, después del estudio de acoplamiento se consideró la mejor pose obtenida, que casi siempre es la de menor energía de unión. Alternativamente, también podemos considerar el menor valor de RMSD por sus siglas en inglés (Root Mean Square Deviation) que se refiere a la desviación de la raíz cuadrática media con respecto a una estructura de referencia⁶.

Es innegable, la versatilidad de esta herramienta permitiendo probar con casi todo tipo de estructura como ligando, con la mayoría de macromoléculas registradas en las bases de datos como diana biológica. Esto abre una ventana colosal a nuevas investigaciones las cuales, inician el camino al descubrimiento de innumerables compuestos candidatos a fármacos. En la **figura 1** se resaltan los elementos necesarios para el estudio de acoplamiento molecular.

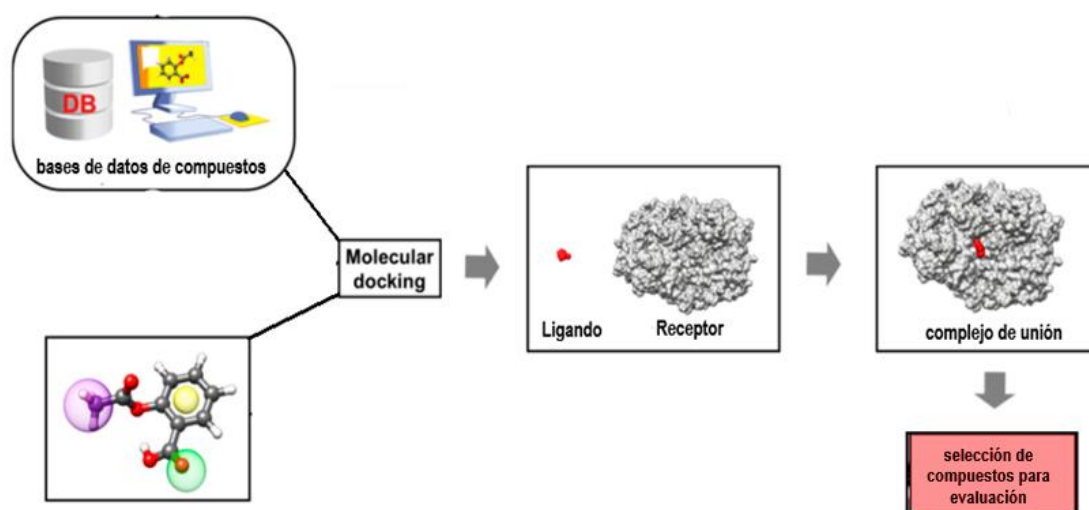


Figura 1. Elementos necesarios para el acoplamiento molecular¹⁸

1.3 Tipos de Acoplamiento Molecular

Se desarrollaron dos metodologías generales para el acoplamiento. En primer lugar, el enfoque de cuerpo rígido que está estrechamente relacionado con el modelo clásico de Emil Fischer. En este modelo, el ligando y el receptor se consideran dos cuerpos independientes que se reconocen entre sí en función de la forma y el volumen. El segundo enfoque es el acoplamiento flexible, este enfoque considera un efecto recíproco del reconocimiento de proteínas y ligandos en la conformación de cada parte⁷. La **Figura 2** muestra una esquematización de los dos enfoques principales para el acoplamiento molecular.

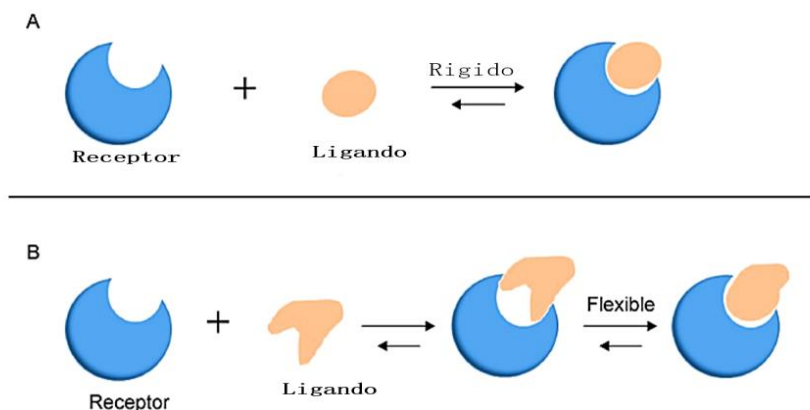


Figura 2. Enfoques principales para el acoplamiento molecular: **A)** cuerpo rígido y **B)** ajuste inducido o flexible²⁰.

1.3.1 Acoplamiento rígido

El acoplamiento rígido considera que la conformación del sistema de acoplamiento (receptor y ligando) no cambia. De acuerdo con esto, es adecuado para sistemas grandes, como proteína-proteína⁸, y ácido nucleico-proteínas. Además, el acoplamiento rígido no requiere múltiples cálculos, por lo que es el método más simple⁹. También, produce una gran cantidad de conformaciones acopladas con una complementariedad de superficie favorable, seguido de la reorganización de las conformaciones utilizando la energía libre de aproximación¹⁰.

Es importante tener en cuenta que cuando el ligando y el receptor se tratan como cuerpos rígidos, el espacio de búsqueda es muy limitado, considerando solo tres grados de libertad de traslación y tres de rotación.

1.3.2 Acoplamiento flexible

En los estudios de acoplamiento estándar, los ligandos se acoplan libremente en un receptor rígido. Sin embargo, se ha visto que la flexibilidad de la cadena laterales juega un papel crucial en los complejos ligando-proteína. Estos cambios permiten que el receptor altere su sitio de unión de acuerdo con la orientación del ligando.

Durante este proceso, el procedimiento de acoplamiento permite modificar fácilmente la conformación del sistema de acoplamiento (receptor y ligando). Dado que las variables del receptor y el ligando aumentan junto con el número de átomos, es necesario considerar varios factores adicionales. Estos incluyen el hecho de que el cálculo es sustancial y el proceso de acoplamiento es demasiado complicado⁹. La **figura 3**, resume las principales características de los tipos de acoplamiento molecular.

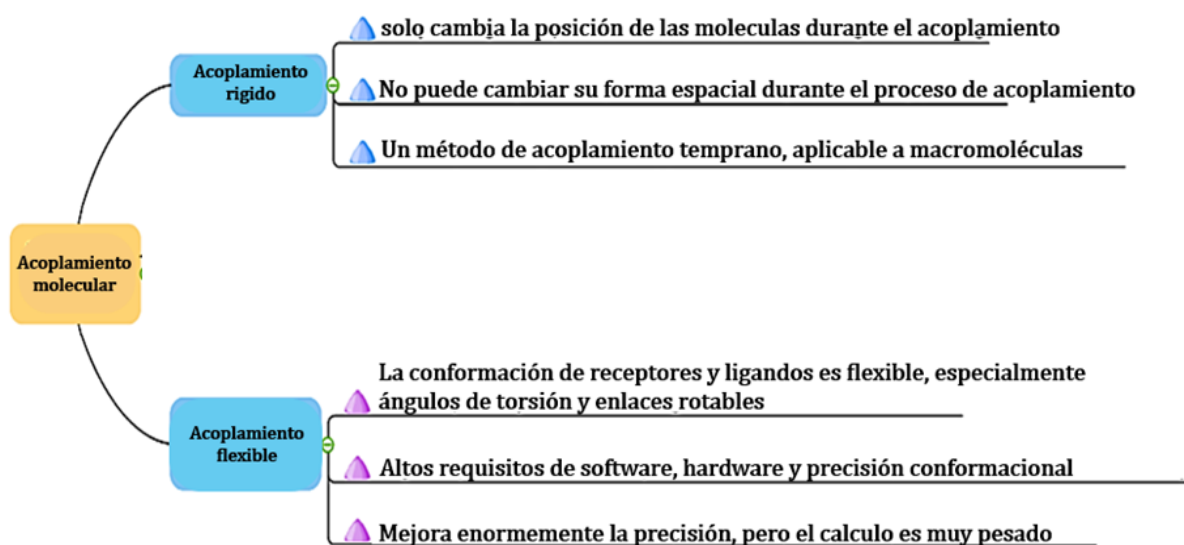


Figura 3. Resumen de las principales características para cada tipo de acoplamiento⁵⁸.

1.4 Algoritmos de Búsqueda.

En la etapa de búsqueda conformacional, los parámetros estructurales de los ligandos, como los grados de libertad de torsión (diedro), de traslación y de rotación, se modifican de forma incremental (**Figura 4A**). Los algoritmos de búsqueda conformacional realizan esta tarea mediante la aplicación de métodos de búsqueda sistemáticos y estocásticos¹¹. Los métodos de búsqueda sistemática promueven ligeras variaciones en los parámetros estructurales, cambiando gradualmente la conformación de los ligandos¹². El algoritmo sondea el panorama energético del espacio conformacional y, después de numerosos ciclos de búsqueda y evaluación, converge a la solución de energía mínima correspondiente al modo de unión más probable (**Figura 4B**). Aunque el método es eficaz para explorar el espacio conformacional, puede converger a un mínimo local en lugar de un mínimo global. Este inconveniente se puede superar realizando búsquedas simultáneas a partir de diferentes puntos del panorama energético.

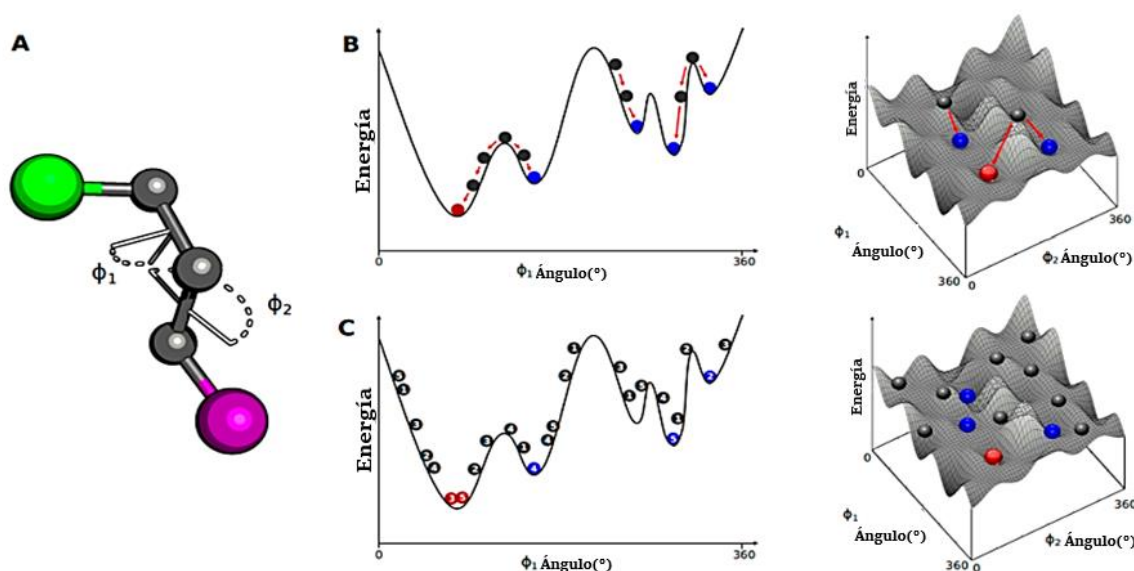


Figura 4. Métodos de búsqueda conformacional de moléculas pequeñas¹³.

Los métodos estocásticos llevan a cabo la búsqueda conformacional modificando aleatoriamente los parámetros estructurales de los ligandos. Para ello, el algoritmo genera conjuntos de conformaciones moleculares y llena una amplia gama del panorama energético (**Figura 4C**). Esta estrategia evita hallar la solución final en un mínimo de energía local y aumenta la probabilidad de encontrar un mínimo global. Como el algoritmo promueve una amplia cobertura del panorama energético, el costo computacional de este procedimiento será considerable y por tanto una limitación importante¹⁴.

Existe una amplia gama de algoritmos los cuales se derivan de lo tratado anteriormente a continuación, se describen brevemente los más importantes:

1.4.1 Emparejamiento rápido de forma (SM)

Los algoritmos de coincidencia de formas son enfoques que tienen en cuenta la superposición geométrica entre dos moléculas. Se emplean diferentes algoritmos para realizar varios alineamientos entre ligando y receptor. Este enfoque puede identificar los posibles sitios de unión de una proteína mediante una búsqueda de superficie macromolecular. Además, los algoritmos específicos de SM establecen posibles conformaciones de los sitios de unión predichos¹⁵.

Un ejemplo de este tipo de métodos lo encontramos en las aplicaciones del acoplamiento rígido, donde el software ZDOCK¹⁶, adopta el concepto básico de SM como su recurso principal, combinando la desolvatación con los parámetro electrostáticos a través de un algoritmo de transformada rápida de Fourier. Logrando una alta precisión en simulaciones de acoplamiento proteína-proteína reproduciendo datos con un RMSD inferior a 2,5 Å¹⁵.

1.4.2 Construcción Incremental (IC)

Este método divide el ligando en fragmentos que se acoplan por separado en el sitio del receptor. Una vez acoplados los fragmentos, las piezas se fusionan. Esta fragmentación

permite que el algoritmo considere la flexibilidad del ligando. Los fragmentos rígidos que se acoplan inicialmente funcionan como "anclajes" que están unidos secundariamente por partes flexibles de ligando que tienen enlaces rotativos. De esta manera, el ligando se "construye" gradualmente dentro del sitio de unión del receptor¹⁵.

También conocido como métodos de anclaje y crecimiento, el algoritmo IC se ha empleado en programas de acoplamiento como DOCK¹⁷, y FLEXX⁵.

1.4.3 Simulación de Monte Carlo (MC)

En este enfoque, los ligandos se modifican gradualmente mediante la rotación del enlace y la traslación o rotación de todo el ligando. También se puede cambiar más de un parámetro a la vez para obtener una conformación particular. Luego, esa conformación se evalúa en el sitio de unión basándose en el cálculo de la energía utilizando la mecánica molecular y luego se rechaza o acepta para la siguiente iteración en función de la constante de probabilidad de Boltzmann. La aceptación o rechazo de la conformación es función del cambio de energía con respecto a un parámetro T , que se puede interpretar físicamente como temperatura¹⁸. Este criterio de aceptación o rechazo hace que este método sea diferente a los demás. Mientras que el otro algoritmo favorece la disminución de energía, en el método MC también son posibles aumentos. Para valores más altos de T es probable que se produzcan aumentos. Si se comienza con un valor alto de T , entonces se pueden saltar pequeñas barreras de energía y la configuración puede moverse más allá de los mínimos locales, esto es, particularmente útil en situaciones donde se busca un mínimo global entre muchos mínimos locales. Un resultado interesante del enfoque MC es la búsqueda Tabú, que mantiene un registro del espacio de búsqueda del sitio de enlace que ya han sido estudiados. por lo tanto, garantiza que el sitio de enlace se explore al máximo¹⁵. Una de las principales preocupaciones con el enfoque MC es la incertidumbre de la convergencia, que puede mejorarse realizando múltiples ejecuciones independientes. Los ejemplos de aplicación del método MC incluyen una versión anterior de AutoDock, Affinity Dock Visión 1.0.3, Glam Dock, MCDOCK, PRODOCK, Ribo Dock, etc¹⁹.

1.4.4 algoritmo genético (GA)

Los algoritmos genéticos (GA), hacen parte de los métodos estocásticos, al igual que el enfoque Monte Carlo (MC). La idea del GA proviene de la teoría de evolución de Darwin. Donde se codifican los grados de libertad como cadenas binarias denominadas genes. Estos genes forman el "cromosoma" que en realidad representa la pose del ligando. Luego, ambos elementos se relacionan por medio de mutación y cruce que hacen parte de los operadores genéticos de GA. En contraste, la mutación produce cambios aleatorios en los genes; el cruce intercambia genes entre dos cromosomas. Cuando los operadores genéticos afectan a los genes, el resultado es una nueva estructura de ligando. Las nuevas estructuras se evaluarán mediante la función de puntuación, y las que sobreviven (es decir, superan el umbral) se pueden usar para la próxima generación. Los algoritmos genéticos se han utilizado en programas como AutoDock, GOLD, DIVALI y DARWIN²⁰.

1.5 Funciones de Puntuación

Las funciones de puntuación son métodos matemáticos de aproximación para estimar la afinidad de unión, que es una herramienta principal para la optimización de los resultados de acoplamiento, encontrando el ligando de mayor afinidad en el objetivo macromolecular. Su precisión puede validarse en pruebas de refinamiento de acoplamiento, donde se mira si el método de puntuación es capaz de predecir datos experimentales¹⁵.

La evaluación y clasificación de las conformaciones de ligando es un aspecto crucial en el cribado virtual. Cuando el interés es saber cómo se une un solo ligando a una biomolécula, la función de puntuación debe predecir la orientación acoplada que represente con mayor precisión la estructura del complejo intermolecular. No obstante, si el interés es evaluar múltiples ligandos, la función de puntuación debe ser capaz de clasificar a un ligando en relación con otro¹⁹.

Las funciones de puntuación generalmente estiman la energía de enlace de un complejo evaluando una amplia gama de propiedades que incluyen; interacciones intermoleculares, de solvatación, efectos electrostáticos y entrópicos¹³, para llegar lo más cerca posible de la energía de enlace real en un tiempo mínimo. Las funciones de puntuación populares tienen

un equilibrio adecuado entre la estimación precisa de la energía de unión y el costo computacional en términos de tiempo²¹.

Investigaciones previas clasificaron las funciones de puntuación en tres clases principales: las de campo de fuerza, empíricas y basadas en el conocimiento. Sin embargo, dado el avance en investigación actual, en estudios para las funciones de puntuación, especialmente en las interacciones proteína-ligando, fue necesario revisar las funciones de puntuación recientes obteniendo un nuevo esquema de clasificación, que clasifica las funciones de puntuación en basadas en la física, empíricas, basadas en el conocimiento y en el aprendizaje automático²². En la **figura 5** podemos observar algunos ejemplos de estas funciones.

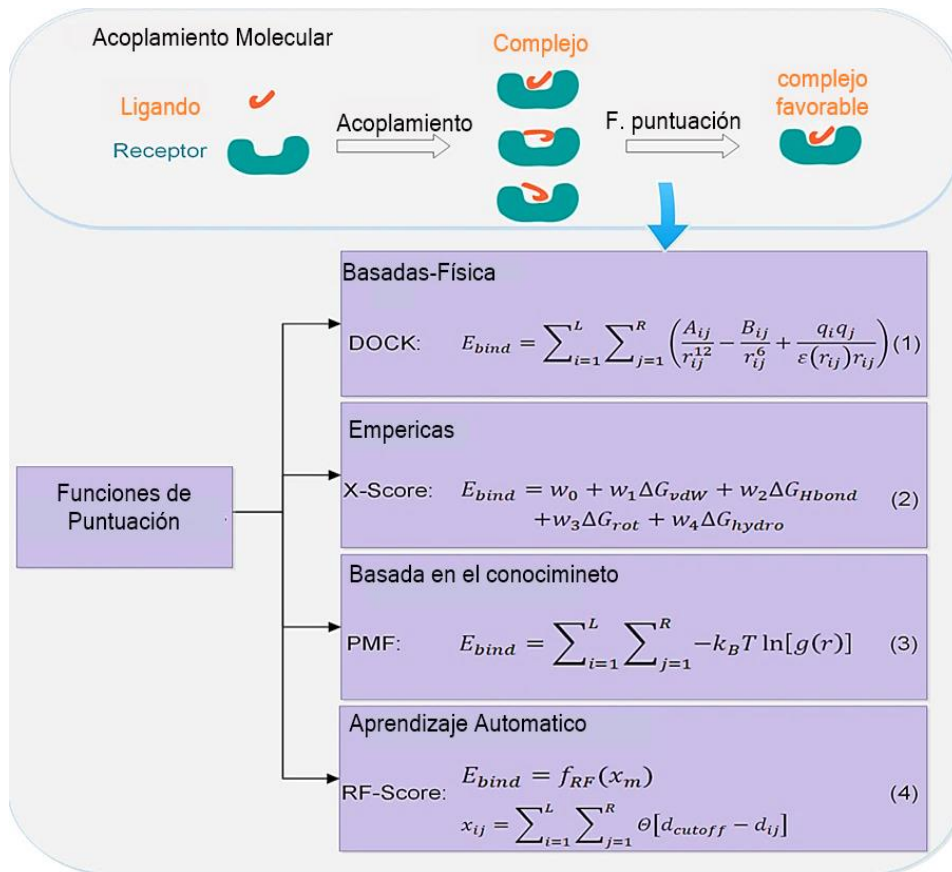


Figura 5. clasificación de las funciones de puntuación para el acoplamiento de proteínas y ligandos²².

1.5.1 Funciones de puntuación basadas en la física

Las funciones de puntuación basadas en la física, donde se incluyen las funciones basadas en campos de fuerza, los modelos de solvatación y los métodos de mecánica cuántica se ilustran en la **figura 6**. La función basada en el campo de fuerza calcula la energía de unión coincidiendo la interacción de Van Der Waals y la interacción electrostática entre los pares de átomos de proteína-ligando (**Ec.1 de la Figura 6**), que también consideran la contribución de la entalpía a la energía. Dado que no se tiene en cuenta a la entropía y el efecto solvente, el rendimiento de la función de campo de fuerza no es lo suficientemente buena. Por lo tanto, la función de campo de fuerza debe mejorarse incorporando la entropía de torsión de los ligandos y el efecto de solvatación / desolvatación descrito por modelos de solventes explícitos e implícitos²³ (**Ec.2 de la Figura 6**).

Estudios recientes han desarrollado de funciones de puntuación basadas en la mecánica cuántica (QM) para abordar los desafíos de las interacciones covalentes, la polarización y la transferencia de carga en el acoplamiento²⁴. Sin embargo, estas funciones basadas en QM tienen mayor precisión y costo computacional que las basadas en campo de fuerza. Por esta razón, se desarrolló un enfoque híbrido de mecánica cuántica/mecánica molecular (QM / MM) (**Ec.3 en la Figura 6**)²⁵.

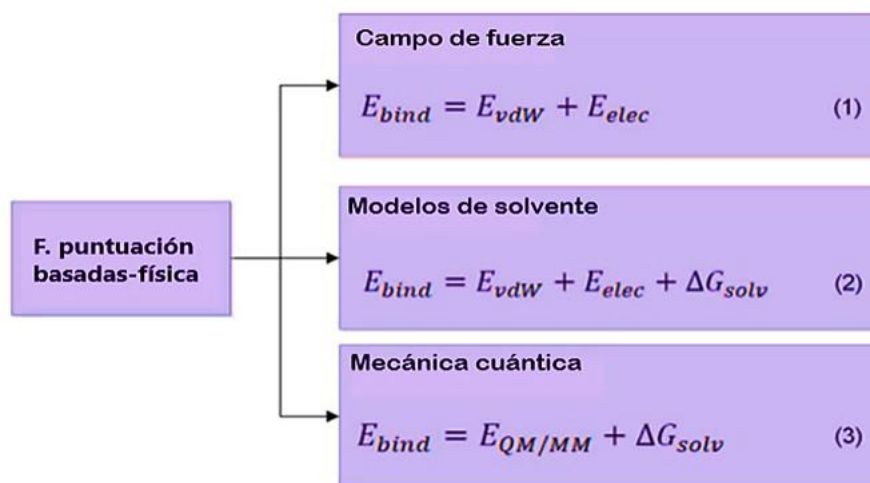


Figura 6. descripción de las funciones de puntuación basada en la física²²

En general, las funciones basadas en la física pueden calcular directamente las interacciones entre los átomos de la proteína y el ligando y su energía libre de unión, con una precisión predictiva relativamente mayor que otros tipos de funciones debido a la consideración de la entalpía, la solvatación y la entropía. Sin embargo, los modelos híbridos MM/QM en estas funciones físicas son computacionalmente caros²².

1.5.2 Funciones de puntuación empíricas

Las funciones de puntuación empíricas, estiman la afinidad de unión de un complejo al resumir los factores energéticos importantes para la unión de proteínas y ligandos, tales como enlaces de hidrógeno, efectos hidrófobos, choques estéricos, etc. Usualmente se emplea un conjunto de entrenamiento con afinidades de unión conocidas para optimizar las cargas de los factores energéticos para las funciones empíricas mediante análisis de regresión lineal^{26,27}. Un ejemplo de funciones empíricas, es la función X-score²⁸, (**Ec.2 en la figura 5**).

Aunque las funciones empíricas descomponen las afinidades de unión proteína-ligando en varios términos de energía individuales, similares a las funciones basadas en la física, generalmente emplean una forma funcional flexible e intuitiva distinta de los modelos establecidos que utilizan las funciones basadas en la física. Debido a sus términos de energía simples, estas funciones son buenas para predecir la afinidad de unión, la pose del ligando y el cribado virtual con un bajo costo informático, pero no es adecuado usarlas para describir la relación entre la afinidad de unión y las estructuras cristalinas²².

1.5.3 Funciones de puntuación basadas en conocimientos.

También denominadas funciones de puntuación basadas en el potencial estadístico, estas funciones emplean potenciales de energía que se derivan de la información estructural en el interior de las estructuras atómicas determinadas experimentalmente. El principio detrás de las funciones de puntuación basadas en el conocimiento es simple: los potenciales por pares se obtienen directamente de la frecuencia de aparición de pares de átomos en una

base de datos utilizando la relación de Boltzmann inversa. Para los estudios de ligandos en proteínas, los potenciales se calculan mediante la ecuación (1):

$$A = \sum_i^{lig} \sum_j^{prot} \omega_{ij}(r) \quad (1)$$

Esto es el potencial dependiente de la distancia entre el par de átomos i-j, es decir, $\omega_{ij}(r)$, se deriva de un análisis de Boltzmann inverso, dado por la ecuación (2):

$$\omega_{ij} = -k_B T \ln[g_{ij}(r)] = -k_B \ln \left[\frac{\rho_{ij}(r)}{\rho_{ij}^*} \right] \quad (2)$$

donde, $\rho_{ij}(r)$ es la densidad numérica del par de átomos i-j a la distancia r, y ρ_{ij}^* es la densidad numérica del mismo par de átomos en un estado de referencia donde se asume que las interacciones interatómicas son cero^{22,29}.

Por otro lado, en comparación con las funciones de campo de fuerza, y las funciones empíricas, las funciones de puntuación basadas en el conocimiento ofrecen un buen equilibrio entre precisión y velocidad. Debido a que los potenciales se extraen de las estructuras en lugar de intentar reproducir las afinidades conocidas por ajuste, y debido a que la base de datos estructural de entrenamiento puede ser grande y diversa, las funciones de puntuación basadas en el conocimiento son bastante robustas y relativamente insensibles a el conjunto de entrenamiento. Su característica por pares también permite que el proceso de puntuación sea tan rápido como las funciones de puntuación empírica.

1.6 Software para Acoplamiento Molecular

El acoplamiento molecular In Silico se realiza mediante softwares específicamente formulados. Desde que se desarrolló el primer programa de acoplamiento en 1982, ha surgido un creciente número de software para acoplamiento molecular que se actualizan constantemente. Sin embargo, existen diferencias de precisión y funcionalidad entre las diferentes versiones de programas disponibles actualmente. Se han informado más de 60 herramientas de acoplamiento molecular en la literatura. Actualmente, los más utilizados incluyen principalmente AutoDock, DOCK, GOLD, FlexX, AutoDock Vina, ICM, Glide,

Surflex y Affinity. Como se muestra en la **Tabla 1**, donde se comparan varios tipos de software de acoplamiento, algoritmos, métodos de evaluación, precisión de acoplamiento, tipos de acoplamiento y más^{10,30,31}.

Tabla 1. Comparación de software de acoplamiento molecular⁹.

Software	Algoritmo	Método de evaluación	Exactitud (%)	Tipo	Velocidad	Costo
AutoDock	Algoritmo genético lamarckiano (LGA)	Energía libre semiempírica	49	Semi-flexible	Promedio	gratis
DOCK	Coincidencia Geométrica	Campo de fuerza molecular	--	Semi-flexible	Rápido	gratis
GOLD	Genético	Energía libre semiempírica	78	flexible	Rápido	pago
FlexX	Construcción Incremental	Energía libre semiempírica	58	Semi-flexible	Rápido	pago
AutoDock Vina	Broyden–Fletcher– Goldfarb–Shanno	Energía libre semiempírica	78	Semi-flexible	Rápido	gratis
ICM	Optimización Global Estocástica	Energía libre semiempírica	--	Semi-flexible	Rápido	pago
Glide	Búsqueda sistemática	Energía libre semiempírica	82	Semi-flexible	Promedio	pago
Surflex	Similitud molecular basada en superficie	Energía libre semiempírica/ Campo de fuerza molecular	75	flexible	Rápido	pago
Affinity	Monte Carlo (MC)	Campo de fuerza molecular	--	flexible	Lento	pago
LigandFit	Monte Carlo (MC)	Campo de fuerza molecular	46	Semi-flexible	Rápido	gratis
Discovery Studio	Mecánica Molecular (MD)	Campo de fuerza molecular	--	flexible	Lento	gratis

El software de acoplamiento semiflexible AutoDock es uno de los más utilizados por ser de código abierto y por su facilidad de uso, aunque no es el más preciso según los datos de la **Tabla 1**, este consta de dos partes: AutoGrid, que se utiliza para calcular el nivel de energía contenido en la red, y Auto-Dock, se emplea principalmente como herramienta de búsqueda para determinar la conformación y las puntuaciones óptimas. Luego, tenemos al software AutoDock Vina que, aunque es basado en el programa anterior, exhibe una mayor precisión y velocidad de acoplamiento, ya que, deja de lado el uso de los algoritmos genéticos y utiliza la optimización de gradiente para establecer el punto mínimo. Este hecho pospone al AutoDock vina como uno de los mejores software de código abierto disponible en la web, puesto que, su exactitud está por encima no solo de AutoDock, sino del resto software de código abierto⁹.

Así mismo, dentro de los programas de código cerrado o pagos tenemos a GOLD, desarrollado por el Centro de datos cristalográficos de Cambridge. El cual, utiliza un algoritmo genético (GA) para el acoplamiento de receptores y ligandos. Este programa tiene un gran porcentaje de exactitud, por lo que es particularmente atractivo, para los grupos de investigación dedicados al desarrollo de moléculas bioactivas. De igual forma, los programas Glide y Surflex, gozan de gran popularidad en la comunidad científica, debido a su óptimo desempeño en la simulación de moléculas, el gran número de publicaciones donde aparecen estos programas lo ratifica. Aunque, a pesar de que el Glide tiene un porcentaje de exactitud más alto que el Surflex y el GOLD, estos últimos permiten acoplamientos flexibles, lo que se asemejaría un poco más al proceso de acoplamiento de forma biológica.

1.7 Limitaciones

La principal limitación del acoplamiento molecular se debe a la carencia de confiabilidad en la capacidad de las funciones de puntuación para proporcionar energías de enlace precisas. Debido, al hecho de que algunos términos de interacción intermolecular son difíciles predecir con exactitud, tal es el caso, para el efecto de solvatación y el cambio de entropía. Además, algunas interacciones intermoleculares pocas veces se consideran en las funciones de puntuación, y han demostrado ser importantes. Por ejemplo, se sabe que la unión de halógeno contribuye a la afinidad de unión proteína-ligando, y también lo hacen las interacciones guanidina-arginina, pero estas no son consideradas dentro de los resultados del acoplamiento. Es decir, que no están parametrizadas dentro del archivo de ejecución de los programas^{19,32}.

Así mismo, todavía es un problema sin resolver la precisión de las moléculas de agua en un bolsillo de unión durante el acoplamiento, este problema es de gran relevancia. En primer lugar, porque las estructuras cristalinas de rayos X carecen de la información de coordenadas del hidrógeno, debido a la dispersión ineficaz de los átomos más pequeños. Si no se conoce la posición exacta del hidrogeno esto nos puede llevar a inexactitudes para encontrar moléculas de agua que podrían estar formando puentes entre el ligando y el receptor. En segundo lugar, se dispone de poca información teórica con suficiente

veracidad para poder predecir cuantas moléculas de agua son afectadas por los ligandos y que tan fuerte es el efecto³³.

Otro ejemplo donde falla el acoplamiento molecular es en la simulación del complejo transtirretina-tiroxina (**figura 7**), donde resultado arroja dos modos de unión posibles, uno similar al modo de unión nativo y otro perteneciente a un dominio de unión alternativo, con una desviación cuadrática media (RMSD) de 8,97 Å. Posteriormente, en la simulación energética la solución de menor energía elegida por el software de acoplamiento fue la de mayor RMSD, por lo que es claro, que el acoplamiento molecular no pudo realizar la predicción correcta del modo de unión con lo que se concluye que podríamos obtener muchos falsos negativos durante el proceso de cribado virtual³³.

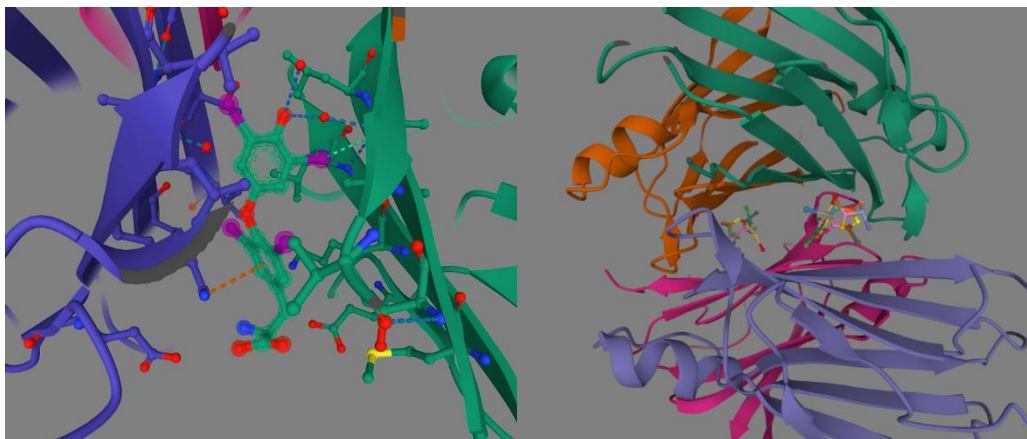


Figura 7. Ejemplo del complejo de transtirretina con tiroxina (T4), perteneciente a una rata PDB(1IE4)³⁴

CAPITULO II: COMPLEJOS METÁLICOS CON ACTIVIDAD ANTICANCEROSA

2.1 Generalidades

La química inorgánica medicinal es un campo que ha ganado gran importancia en esta última década, ya que los compuestos basados en metales ofrecen muchas posibilidades para el diseño de agentes terapéuticos con mejores características frente a los compuestos orgánicos. La amplia gama de números y geometrías de coordinación, estados redox accesibles, características termodinámicas, cinéticas, y las propiedades intrínsecas del ion metálico catiónico y del ligando en sí, ofrecen un amplio espectro de reactividades que pueden ser explotadas. Aunque los metales se han utilizado durante mucho tiempo con fines medicinales, sus potenciales como agentes anticancerígenos solo se exploraron completamente desde el descubrimiento histórico de la actividad anticancerosa del cis-diaminodicloroplatino (II) (cis- $[\text{PtCl}_2(\text{NH}_3)_2]$), cisplatino por Barnett Rosenberg. Hasta la fecha, este fármaco anticáncer prototípico sigue siendo uno de los fármacos más eficaces³⁵.

Desafortunadamente, sus efectos secundarios severos limitaron su dosis, y la resistencia intrínseca o adquirida en las células tumorales restringieron su rango de aplicación como agentes antitumorales. Por lo que, la síntesis de complejos metálicos farmacológicos funcionales se ha convertido en una área de investigación que ha atraído considerables atenciones³⁶.

2.2 Complejos de Platino.

La síntesis del cisplatino en 1965, revolucionó la terapia contra el cáncer, generando un enorme impacto en la búsqueda y descubrimiento de nuevos derivados metálicos procedentes de su estructura inicial, tales como, el carboplatino y oxaliplatino, los cuales han sido aprobados en todo el mundo para el tratamiento de ciertos tipos de cáncer.

Desde el punto de vista de la química inorgánica, el cisplatino es un complejo de coordinación formado por un átomo de platino (II), coordinado con dos ligandos aniónicos (Cl^- , cloruro) y dos ligandos neutros (NH_3 , amoníaco), esta estructura le confiere la capacidad de interactuar con el ADN e inducir apoptosis como mecanismo de acción antitumoral. En la **figura 8a, b** se muestran los isómeros del cisplatino.

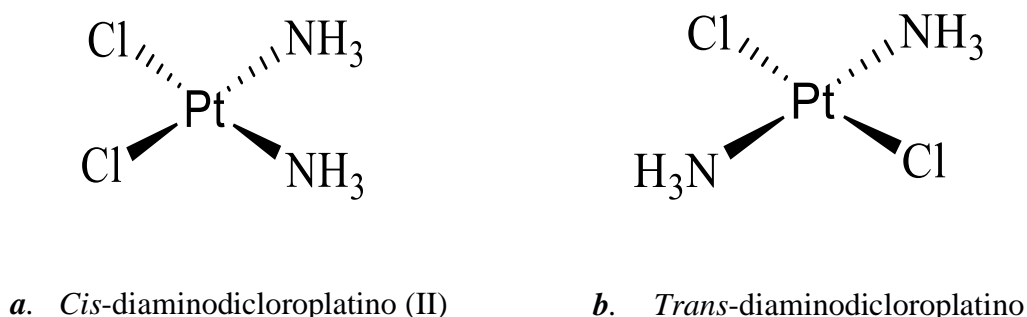


Figura 8. Isómeros geométricos *cis* y *trans* del cisplatino³⁷

Así mismo, procedentes del auge del cisplatino los complejos sintetizados consiguientemente guardaban características y similitudes estructurales propias del complejo inicial, tales características van desde su índice de coordinación IV, hasta su estructura cuadrada planar. Como ejemplo de ello tenemos al *cis*-diamino (1,1-ciclobutanodicarboxilato) platino (II), conocido como carboplatino (**figura 9a**). Este fármaco de segunda generación es un análogo donde los ligandos aniónicos cloruros son sustituidos por los átomos de oxígeno de la molécula 1,1-dicarboxilato-ciclobutano, que le confiere una mayor estabilidad en el proceso de hidrólisis, además de mostrar una menor nefrotoxicidad. Su único inconveniente es que causa una disminución en los niveles de glóbulos blancos, rojos y plaquetas, debido a un efecto mielosupresión que se genera durante el tratamiento.

Su modo de acción es similar al del cisplatino, pero debido a su menor reactividad al momento de formar enlaces con las bases nitrogenadas, su concentración debe ser mayor a la del cisplatino.

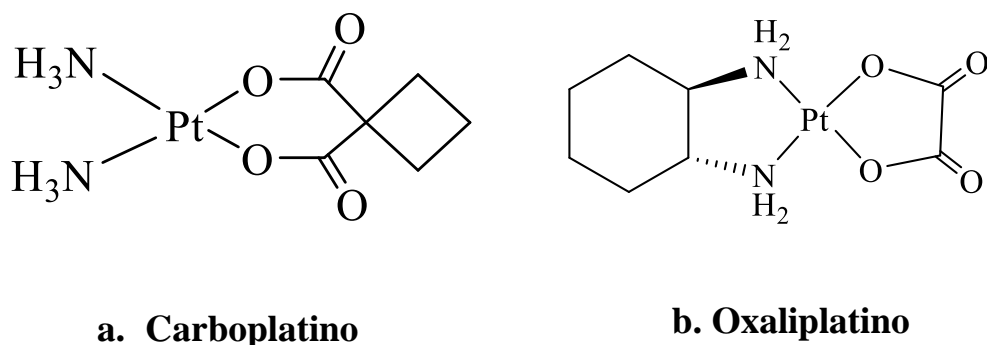


Figura 9. complejos carboplatino y oxaliplatino³⁸

Otro complejo de gran importancia es el oxaliplatino (trans-L-1,2-diaminociclohexanoxalatoplatino) (**figura 9b**), este fármaco de tercera generación aceptado por la agencia Europea de Medicamentos y la FDA en 2002, está constituido por un ligando de 1,2-diaminociclohexano, el cual, es más resistente a los procesos de hidrólisis y a las reacciones secundarias antes de darse la unión con el ADN.

Presenta algunas ventajas sobre el cisplatino y carboplatino, ya que, tiene una mayor citotoxicidad e inhibición de la síntesis de ADN, es menos nefrotóxico, y es activo contra líneas celulares resistentes. Su única limitación es que puede causar neuropatías en tratamientos prolongados^{37,38}.

Se llevaron a cabo investigaciones teóricas y experimentales para estudiar esta gran familia de complejos, como por ejemplo, los realizados en el trabajo de Abazari y colaboradores, donde un complejo de nitrato de platino (II) de metil-glicina 1,10 fenantrolina (**figura 10**), fue analizado con métodos espectroscópicos que implicaron fluorescencia, y dicroísmo circular (CD) de UV lejano, complementados con acoplamiento molecular los cuales se emplearon para dilucidar las interacciones de este complejo con las proteínas albumina sérica humana (HSA) y hemoglobina (Hb).

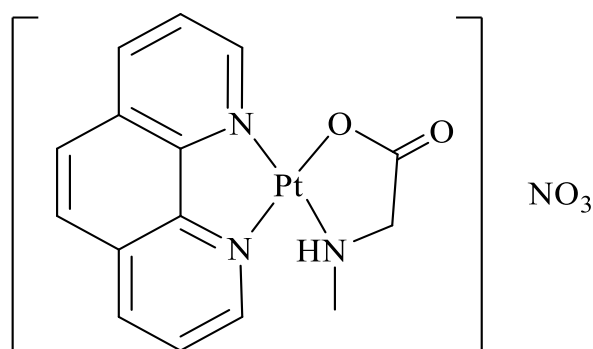


Figura 10. Estructura molecular del complejo de Pt (II)³⁹.

En cuanto a sus resultados, los estudios de acoplamiento molecular mostraron los sitios de interacción, y la energía de unión. Por lo que, este tipo de método es adecuado para confirmar la concordancia entre los resultados obtenidos con base a los estudios espectroscópicos realizados dada la interacción proteína-ligando.

De manera mucho más específica, los hallazgos del acoplamiento muestran la existencia de un sitio de unión para el complejo Pt (II) en HSA en una cavidad hidrofóbica entre las ubicaciones donde se alojan estructura de otros medicamentos ya conocidos (**figura 11**).

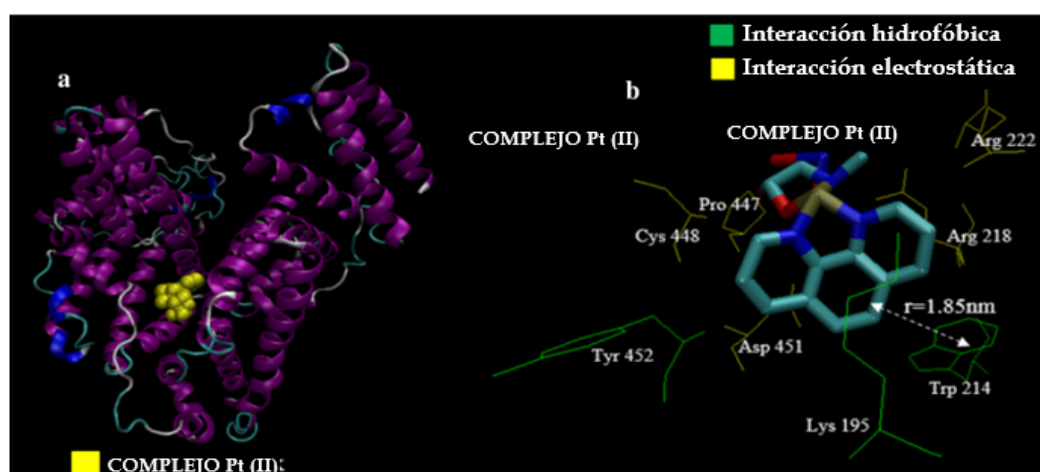


Figura 11. Ubicación de unión del complejo Pt (II) en HSA (a); representación del complejo Pt (II) y los residuos de aminoácidos de HSA en la ubicación de unión (b)³⁹

Este sitio de unión se ilustra ya que el complejo Pt (II) y Trp 214 se han situado a una distancia igual a 1,85 nm (**figura 11**). Luego el acoplamiento presenta una ligera discrepancia en cuanto a la estática mostrada por la espectroscopia de fluorescencia.

De igual forma, los resultados obtenidos para la unión del complejo Pt (II) a la Hb muestra una interacción en un sitio de unión de la cadena β_2 (**figura 12a**), situado a una distancia de 1,99 nm de β_2 -Trp 37 (**figura 12b**), confirmando la formación de un complejo en el sitio de unión de la proteína³⁹.

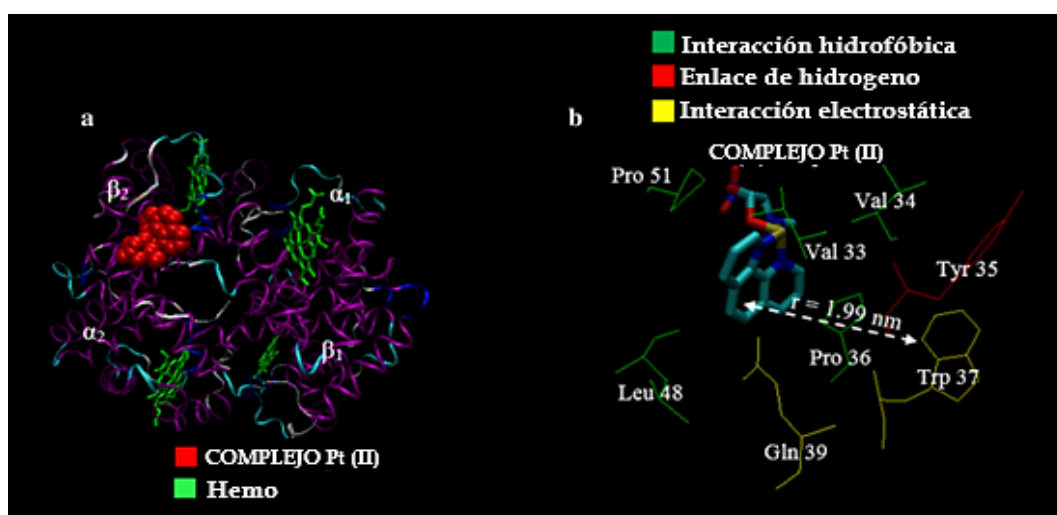


Figura 12. *a* Ubicación de unión del complejo Pt (II) en Hb, *b* representativa del complejo Pt (II) y residuos de aminoácidos de Hb en la ubicación de unión, y distancia entre el complejo Pt (II) y el Trp 37 de Hb³⁹.

Finalmente, esta investigación concluye resaltando la importancia de estudiar la unión de complejos anticancerosos a las proteínas transportadoras, como una técnica novedosa para la investigación farmacéutica en el estudio y diseño de nuevos fármacos y sistemas para administrar medicamentos. También resalta la importancia de la combinación de acoplamiento molecular con espectroscopia, ya que, ha ayudado a obtener datos relevantes en la investigación de la unión, haciendo referencia al uso en conjunto de técnicas computacionales y experimentales en estudios de complejos proteína-ligando con aplicaciones médicas³⁹.

Posteriormente también podemos decir de manera general, que indudablemente los complejos de platino fueron y siguen siendo el pilar en desarrollo de complejos anticancerosos dentro de la inorgánica médica. Además de esto, el uso del acoplamiento molecular ha ido ganando cada vez más méritos dentro de este tipo de investigaciones al

punto de convertirse en una metodología bien afianzada en muchos grupos de investigación en todo el mundo.

2.3 Complejos de Rutenio (II).

Los complejos basados en rutenio han llamado la atención de los científicos que trabajan en química bioinorgánica médica, debido a que suelen compararlos favorablemente con el cisplatino por sus capacidades análogas de intercambio de ligandos, con sus estados de oxidación accesibles en fluidos biológicos [Ru(II), Ru(III) y quizás Ru(IV)], por su unión a proteínas biológicamente relevantes, y por su menor toxicidad contra los tejidos sanos, probablemente explicada por el transporte a las células tumorales por la transferrina (que a menudo se sobre expresa en muchas células tumorales), dado el supuesto mayor requerimiento de hierro de estas células que se dividen rápidamente³⁸.

En comparación con muchos compuestos orgánicos, los complejos de rutenio ofrecen la ventaja de costos relativamente bajos para su síntesis y purificación. Varios de estos complejos de rutenio tienen la capacidad de inhibir la metástasis de cánceres invasivos sólidos^{38,40}. Luego encontramos complejos de coordinación aniónicos de Ru (II), NAMI-A⁴¹ y KP1019 (**Figura 13**), que han llegado con éxito a los ensayos clínicos de fase I y han entrado en la fase II.

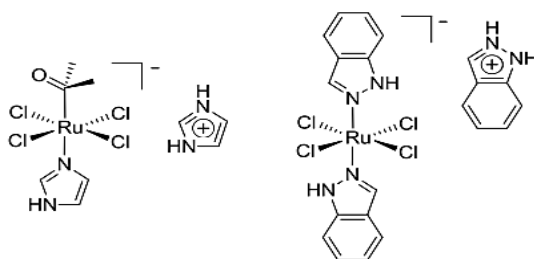


Figura 13. Estructura química de NAMI-A y KP1019.

También se han obtenido complejos de Ru (II) con arenos, prometedores para ensayos clínicos, como los sintetizados por Sadler y colaboradores de fórmula $[(\eta^6\text{-areno}) \text{RuCl}(\text{en})] \text{PF}_6$ (en = etilendiamina) (**Figura 14**), que son citotóxicos para células cancerosas incluidas las líneas celulares resistentes al cisplatino. Así mismo, los complejos de la familia RAPTA obtenidos por Dyson et al. conformados por un ligando hidrofílico y

monodentado de fosfina PTA, que muestra muestran selectividad hacia los cánceres metastásicos (**Figura 14**).

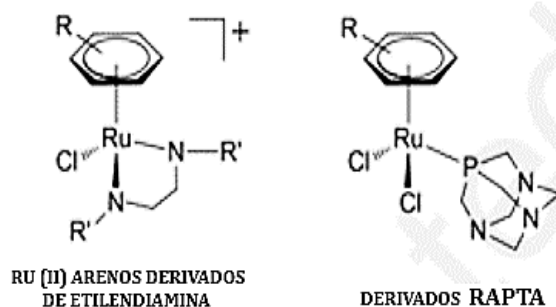


Figura 14. Complejos anticancerígenos de rutenio representativos (η^6 -areno)³⁸.

Al igual que en el cisplatino, en el estudio de esta familia de complejos también encontramos combinación de técnicas experimentales con estudios computacionales, tal es el caso del estudio realizado por Bing Tang y colaboradores, donde se evaluaron las propiedades anticancerígenas de tres complejos de rutenio (II) con un ligando PTCP (2-fenantren-9-il-1H-1,3,7,8-tetraazaciclopenta[*l*]fenantreno) **figura 15**, investigando la citotoxicidad in vitro en líneas celulares de cáncer SGC-7901 (carcinoma gástrico humano), HepG2 (cáncer hepático), HeLa (adenocarcinoma cervical humano), SiHa (cáncer de cuello uterino), y células normales NIH3T3. También, se midió la apoptosis por citometría de flujo y se estudiaron las interacciones con ADN por medio acoplamiento molecular⁴².

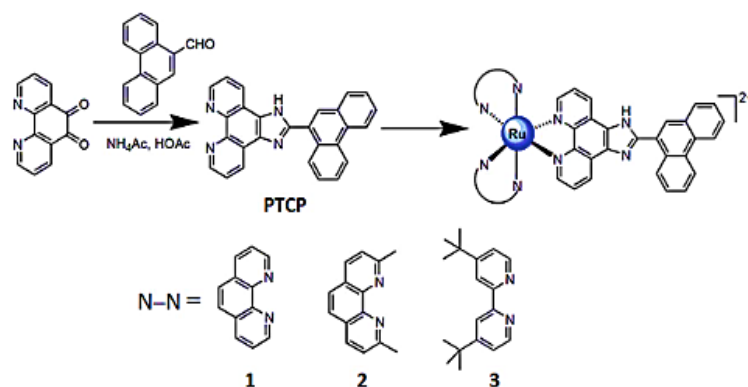


Figura 15. Ruta síntesis del ligando y los complejos⁴².

Los resultados de tal estudio mostraron que los complejos exhiben una alta actividad citotóxica hacia SGC-7901 (carcinoma gástrico humano) y una baja actividad citotóxica contra NIH3T3 de células normales. En términos generales todos tienen citotoxicidades más bajas que el cisplatino, y sus valores de IC50 son notablemente mejores en comparación a otros complejos de rutenio.

En cuando a los resultados del acoplamiento molecular, los complejos mostraron interacciones con el ADN a través de una intercalación parcial en el surco principal como se muestra en la **figura 16**. Las energías de unión relativas resultantes del acoplado 1, 2 y 3 con ADN son 37,18, 31,95 y 9,70 kJ/mol, respectivamente. Siendo la energía más negativa la muestra una afinidad de unión al ADN más potente.

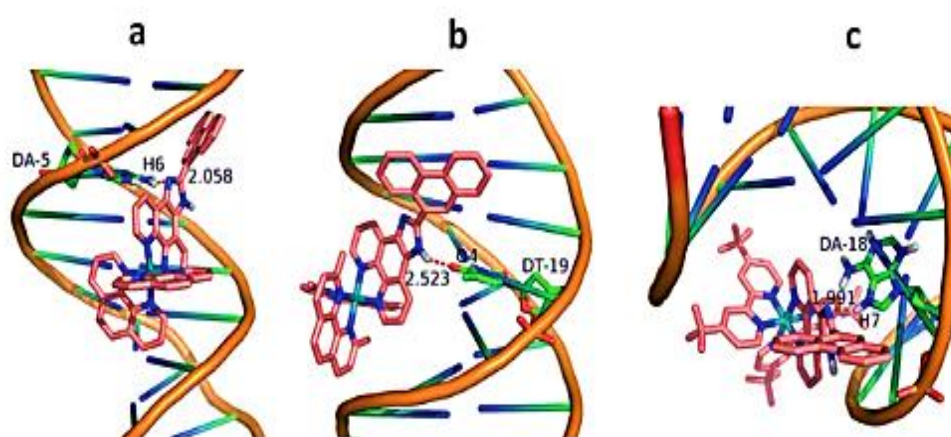


Figura 16. Modelos de acoplamiento moleculares de los complejos 1(a), 2(b) y 3(c) con ADN. Los enlaces de hidrógeno entre los complejos y el ADN están marcados con líneas discontinuas rojas.

Al final los autores de la investigación mencionada anteriormente, llegan a varias conclusiones entre las cuales podemos resaltar, donde se afirma: primero, que el trabajo realizado será útil para el diseño y síntesis de complejos de rutenio (II) en la búsqueda de candidatos a fármacos contra el cáncer, segundo, la alta actividad citotóxica hacia las células SGC-7901, pueden aumentar los niveles de ROS e inducir una disminución del potencial de membrana mitocondrial, y finalmente de la revisión también podemos notar que el uso del acoplamiento molecular contribuye al diseño racional de fármacos y al estudio de mecanismos de unión de gran relevancia en este tipo de investigaciones.

2.4 Complejo de Oro (III).

La implementación de complejos de Au (III) como agentes antitumorales no sido igual que en los compuestos de platino debido a que lo complejos de Au (III) son generalmente oxidantes fuertes y potencialmente tóxicos en sistemas biológicos. Sin embargo, las propiedades anticancerígenas del fármaco antiartrítico Au(I) fosfina auranofina en células HeLa in vitro, según lo informado por Lorber et al³⁸. han desencadenado un gran interés en la búsqueda de nuevos compuestos de oro como posibles fármacos contra el cáncer.

2.4.1 Complejos N-C.

Parish y colaboradores describieron la actividad antitumoral del complejo mononuclear de oro (III) (a) en 1996 (**figura 17**). Luego este compuesto mostró una citotoxicidad semejante a la del cisplatino contra varias líneas de células tumorales humanas. Sin embargo, su mecanismo de acción fue diferente al del cisplatino. El papel de la hidrólisis no fue claro como modo de activación en este compuesto, lo que si sabe es que el complejo (a) y sus análogos de acetato y malonato inhiben la catepsina B, y de TrxR (tiorredoxina reductasa)⁴³. Asociados clínicamente con un crecimiento tumoral agresivo, lo que lo convierte en un objetivo para terapias contra el cáncer.

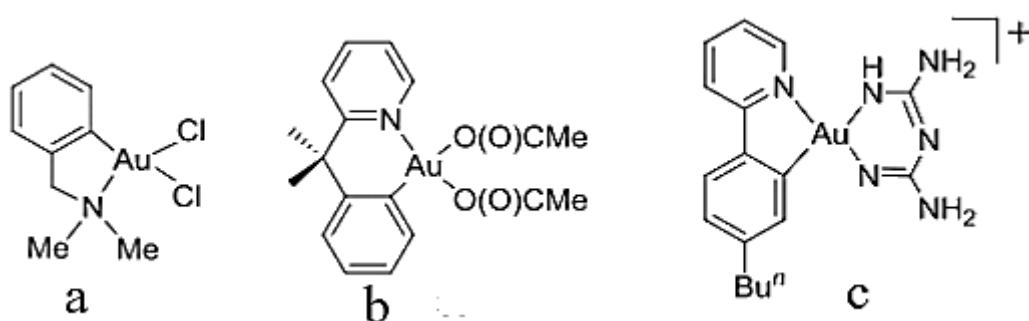


Figura 17. Complejos cicloaurados de estructura en forma de pinza C-N³⁸.

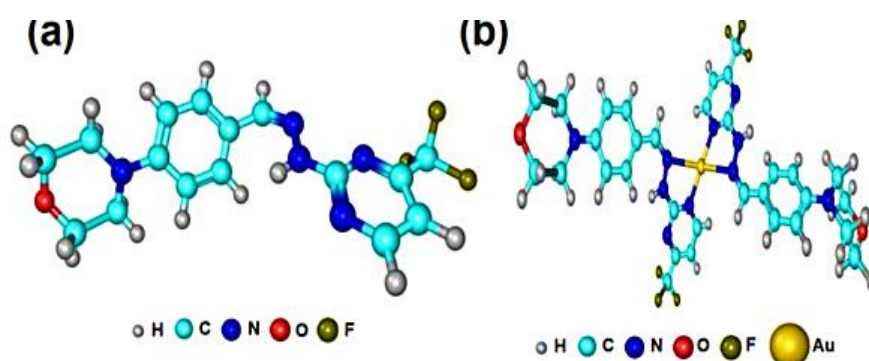
Siguiendo con esta familia de compuestos, tenemos al complejo (b), el cual mostró resultados prometedores frente a la línea celular A2780 (carcinoma de ovario), con un perfil similar al cisplatino, aunque con una resistencia significativa. Sin embargo, este complejo promueve la apoptosis en mayor medida que el cisplatino y el oxaliplatino. Según estudios en condiciones similares a la fisiológicas mostraron una especie hidrolítica estable capaz de inhibir TrxR mitocondrial de la cual hablamos anteriormente³⁸.

Así mismo, el complejo (c) sintetizado por Che y colaboradores, presentó una toxicidad alta frente a células HeLa (adenocarcinoma cervical humano) y baja toxicidad frente a células normales. Luego este complejo combinó un ligando lipofílico con otro que presenta grupos polares de enlace H para mejorar su solubilidad⁴⁴. También encontraron que detenía el ciclo celular en fase S y mostraba un efecto antiangiogénico en concentraciones citotóxicas bajas⁴⁵.

El estudio de estos complejos de Au (III), resulta un poco más complejo que los tratados anteriormente ya que, su comportamiento estructural no es del todo parecido al cisplatino, y sus mecanismos de acción diversos los convierten en todo un reto.

Reto que estudios recientes como los hechos por Sankarganesh y colaboradores decidieron asumir, cuando sintetizaron un complejo de oro Au (III), a partir de análogos de pirimidina y morfolina, que sometieron a estudios teóricos y experimentales con fin de estudiar su estructura, y su citotoxicidad en algunas líneas celulares cancerígenas. En este estudio se utilizó acoplamiento molecular acompañado por cálculos de DFT y TDDFT, para estudiar los modos de unión y la estructura electrónica del complejo⁴⁶.

Figura 18. Geometría optimizada por DFT del ligando (a) y el complejo Au (III) (b)⁴⁶.



Luego, en tales estudios realizados al complejo Au (III), los datos espectroscópicos sugirieron que dicho complejo adoptaba una geometría cuadrada planar alrededor del

átomo central (**figura 18**). La actividad anticancerígena *in vitro* del ligando y complejo fue analizada mediante ensayo MTT (ensayo colorimétrico para evaluar actividad metabólica celular), curiosamente, el complejo destruyó las líneas cancerosas (mama-MCF-7, hígado HepG2, cuello uterino-HeLa, pulmón-A549), pero presentó menor toxicidad contra células normales en contraste con el cisplatino. Además, se realizaron estudios *in vivo* en ratones portadores de tumores, que corroboraron que el complejo Au (III) sintetizado tenía una capacidad anticancerígena potencial (**figura 19**).

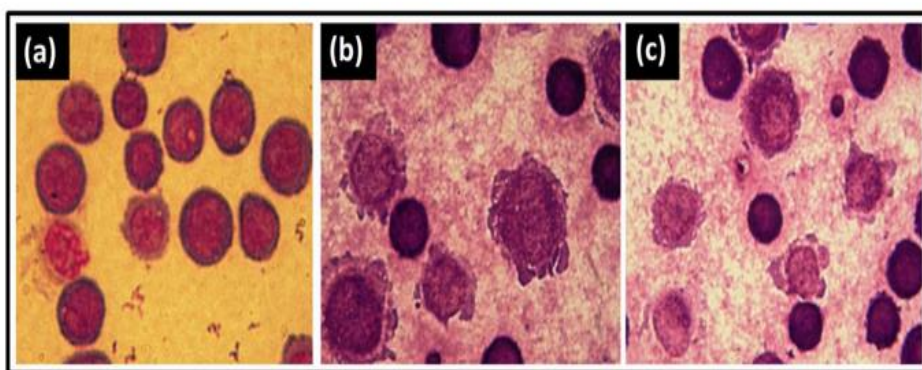


Figura 19. (a) Frotis que muestra células EAC maduras con estructura definida y membrana celular clara sin degeneración, (b) células tumorales EAC tratadas con complejo Au (III), muestran ampollas y desintegración de la membrana, (c) células EAC tratadas con Complejo de Au (III) que muestra sangrado y posterior destrucción de la membrana ⁴⁶.

Finalmente, los resultados de acoplamiento molecular mostraron información relevante sobre las afinidades de unión del complejo metálico y su ligando libre hacia el ADN y la proteína BSA (albúmina de suero bovino), cabe resaltar que se tuvo en cuenta al ligando libre en esta investigación con el fin de comparar su comportamiento con el complejo. Tal comportamiento indica que la capacidad de unión del complejo de oro es mayor que la del ligado por sí solo. En relación a lo anterior, los resultados de la interacción con el ADN mostraron que el ligando y el complejo Au (III) se unen mediante un modo de unión intercalado (**figura 20**).

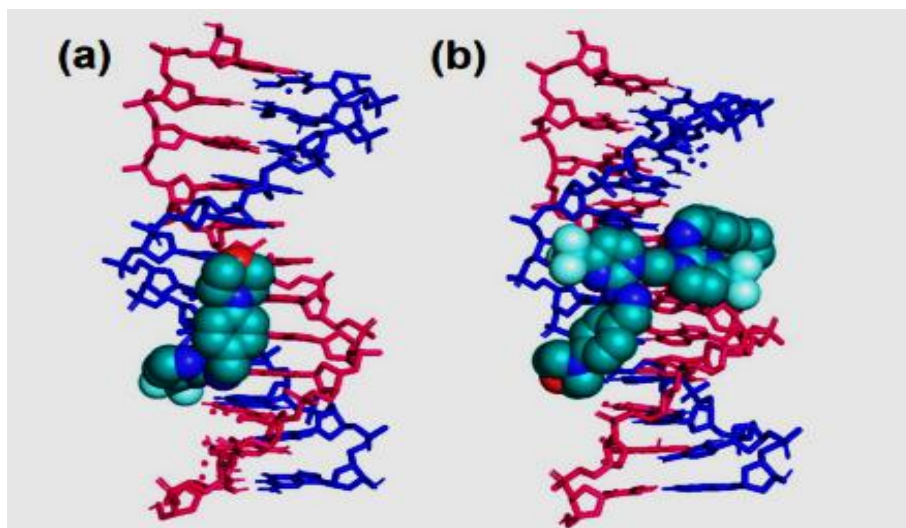


Figura 20. posición de unión posible del ligando libre (a) y el complejo de Au (III) (b) en la doble hélice de ADN.

En relación a lo anterior, es interesante ver como se mantuvo una tendencia similar en los estudios de unión a la BSA, ya que el complejo mostró mejor energía de enlace a pesar de formar un solo enlace de hidrogeno con la His 145 dentro de la proteína, mientras que el ligando a pesar de formar tres puentes de hidrogeno con Try 149, His 241 y Arg 256 respectivamente, presentó una energía de enlace menos estable (**figura 21**). En general, tanto el complejo metálico como el ligando se estabilizaron mediante otras interacciones no covalentes, y la tendencia de la energía de enlace está totalmente de acuerdo con los datos experimentales⁴⁶.

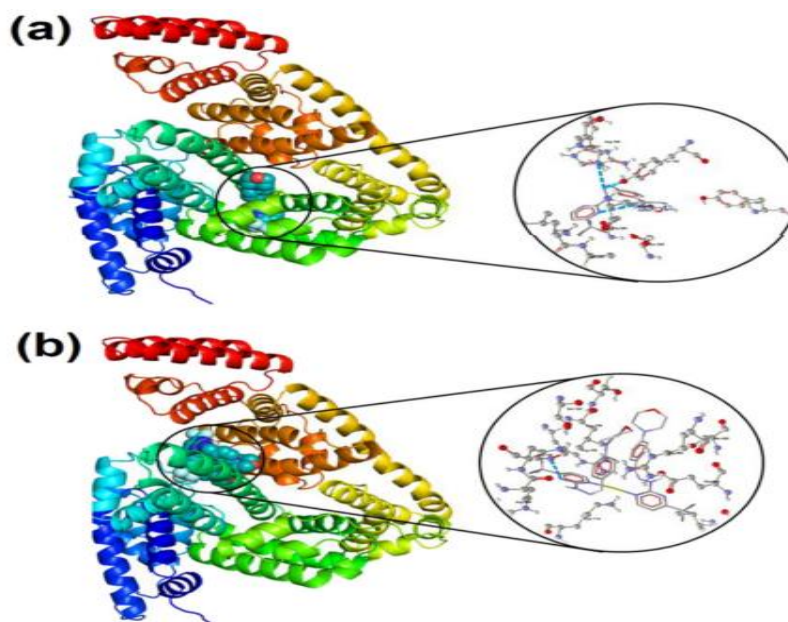


Figura 21. posición de la posible unión del ligando libre (a) y el complejo metálico Au (III) (b) en la BSA de nuestro análisis de acoplamiento molecular.

Finalmente, podemos decir que se necesitan más estudios para probar las propiedades quimioterapéuticas del complejo de oro que lleva sustituyentes de pirimidina y morfolina. Ya que, de mecanismo de acción solo sabemos de sus interacciones con ADN, del resto queda en su totalidad para estudios futuros.

2.5 Complejos de Cobre.

2.5.1 Generalidades.

El cobre es un elemento bioesencial de gran relevancia en sistemas biológicos, que desempeña funciones en el metabolismo humano y en el desarrollo de agentes farmacéuticos. Es cofactor estructural y catalítico, el cobre también es indispensable para la formación de nuevos vasos sanguíneos en tumores cancerosos junto con la diseminación metastásica de tumores. Se ha demostrado que las células normales absorben menos cobre que varias células cancerosas, incluido el cáncer de sangre y los tumores sólidos⁴⁷.

El cobre forma una gran variedad de complejos de coordinación con estados de oxidación (II) y (I), y se reportan muy pocos ejemplos de compuestos de cobre (III). La química de coordinación del cobre está regida por derivados de Cu (II), con poca presencia de compuestos de Cu (I). Dado que los complejos de cobre (I/II) son redox activos, frecuentemente lábiles y atípicos en su preferencia por geometrías de coordinación distorsionadas, son mucho menos predecibles estructuralmente que otros complejos de metales de transición de primera fila.

Se ha descubierto que el cobre participa en muchos procesos biológicos importantes y demostró ser prometedor en el desarrollo de nuevos agentes farmacológicos mediante una amplia exploración de los complejos de cobre como agentes anticancerígenos con propiedades que incluyen efectos antitumorales, antipalúdicos y antifúngicos.

2.5.2 Sistemas κ^2 -N, S de Tiosemicarbazonas (TSCs).

Con el ligando bidentado κ^2 -N, S-TSCs, los complejos Cu (II) de la 2-hidroxi-8-propil-triciclo-[7.3.1.0.2,7]-tridecano-13-ona-tiosemicarbazona (**Figura 22**), fueron probados en ensayos in vitro sobre la proliferación de células HeLa. Para todos los complejos probados, la actividad anti proliferativa estuvo entre 1 y 10 μ M. Los complejos binucleares de cobre (II) **2a-d** de TSC derivados de cuminaldehído (**Figura 22e**) han mostrado actividades de escisión nucleolítica en el ADN del plásmido pUC18 usando electroforesis en gel.

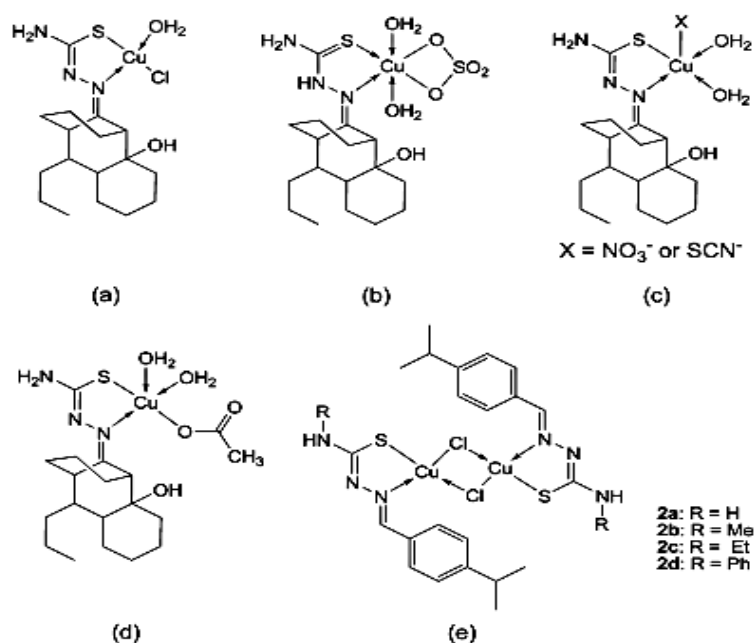


Figura 22. (a–d) Complejos de cobre de ligandos bidentados κ^2 -N, S-TSC derivado de 2-hidroxi-8-propil-triciclo [7.3.1.0.2,7]tridecano-13-ona; (e) complejos de cobre de ligandos bidentados κ^2 -NS-TSCs derivados de cuminaldehído (*p*-isopropil benzaldehído)⁴⁸.

Es evidente que la elección del ligando es un factor clave que puede influir en la actividad citotóxica e incluso en la naturaleza lipofílica de los complejos de cobre y de cualquier complejo en general.

2.5.3 Sistemas κ^3 -N, O, S.

Aquí encontramos complejos de cobre con ligandos tridentados κ^3 -N, O, S de Tiosemicarbazonas (TSCs). Los átomos de oxígeno donadores generalmente son derivados de compuestos con relevancia biológica aprobada, como el salicilaldehído, 1,2-naftoquinona, formiluracilo o piridoxal (ver **figura 23**).

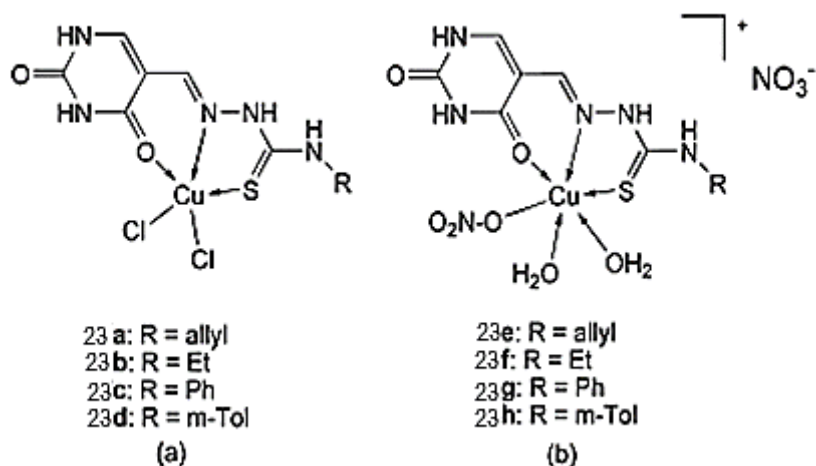


Figura 23. estructura de los complejos de cobre (23a-h) de los ligandos TSC de 5-formiluracilo.

Los derivados de cobre (II) 23a-h de 5-formiluracilo TSC fueron neutros y pentacoordinados cuando se sintetizaron a partir de cloruro de cobre (**Figura 23a**). Por el contrario, los derivados del nitrato consistían en monocationes hexacoordinados y aniones nitrato (**Figura 23b**). la variación de los sustituyentes en el resto TSC, y la geometría de coordinación no se vio afectada para los complejos con el mismo contraión. En cambio, las interacciones con CT-DNA y la actividad nucleasa verificada en el plásmido DNA pBR322 se vieron fuertemente afectadas.

También, se han preparado y caracterizado una serie de complejos de cobre (II) que contienen 2-oxo-1,2-dihidroquinolina-3-carbaldehído TSC N-sustituido (**figura 24**) para estudiar el efecto de la sustitución del ligando en el N terminal sobre las estructuras de los complejos y sobre sus actividades biológicas. Las propiedades de unión de la albúmina sérica bovina (BSA) de los complejos sugirieron que la afinidad de unión aumentó con el aumento del tamaño del sustituyente del resto TSC. Los estudios citotóxicos mostraron que los complejos de la **figura 24 a, b** muestran una buena actividad citotóxica contra las

líneas celulares HeLa y el complejo de la **Figura 24 c**, se unió fuertemente a CT-DNA a través de un modo intercalado.

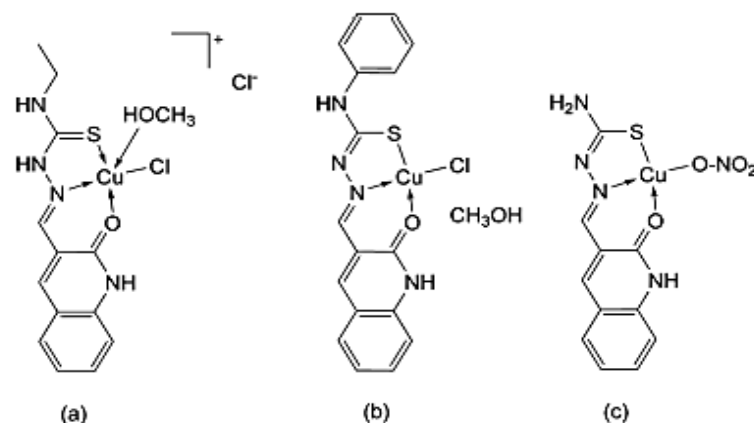


Figura 24. Estructura de los complejos (a) $[Cu(L)Cl(MeOH)]Cl$, (b) $[Cu(L)Cl] \cdot (MeOH)$, y (c) $[Cu(L)NO_3]$.

2.5.4 Sistemas donadores de κ^2 -O, O.

La plumbagina (5-hidroxi-2-metil-1,4-naftoquinona) es una potente toxina natural que se ha utilizado para el tratamiento de la artritis reumatoide, la dismenorrea, los hematomas y el cáncer. Este compuesto se hizo reaccionar con sales Cu (II) para producir al complejo de la **figura 25a**. Luego, utilizando la 2,2-bipiridina como coligando, se obtuvo el complejo derivado de la **figura 25b**. posteriormente, los ensayos de citotoxicidad in vitro de plumbagina y los complejos de Cu (II) contra varias líneas celulares de cáncer (MCF 7 cáncer de mama, hepatoma humano HepG2, carcinomas de colon CNE2, etc.) demostraron que **25b** fue 27 veces más eficaz que el cisplatino contra células NCI-H460 (carcinoma de pulmón). Los compuestos de cobre exhibieron una mayor citotoxicidad en comparación con la plumbagina libre. Se investigaron sus propiedades de unión al ADN y los resultados indicaron que los dos complejos estaban unidos de forma no covalente y principalmente intercalados con los pares de bases de ADN vecinos⁴⁸.

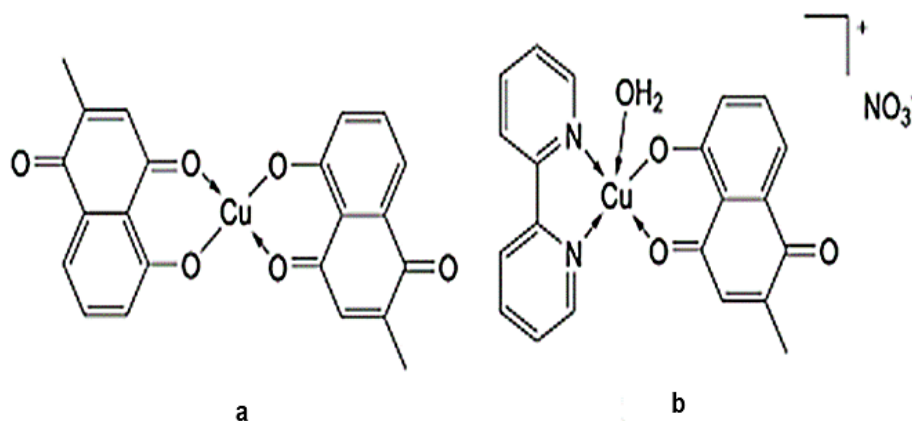


Figura 25. Estructura de los complejos de cobre (II) plumbagina (HL20).

2.5.5 Complejos de cobre como inhibidores del proteosoma

Se ha demostrado que las células cancerosas son más sensibles a la inhibición del proteosoma que las células normales. Por lo tanto, estudiar la vía de la ubiquitina-proteosoma ha surgido como una posible estrategia anticancerígena. Actualmente, el desarrollo de inhibidores para este complejo proteico está bajo investigación intensiva.

Más recientemente, se investigó los efectos de complejos de cobre discretos del tipo $[\text{Cu}(\text{PyDTC})_2]$, **14b** y $[\text{Cu}(\text{EtDTC})_2]$, **15b** (PyDTC = pirrolidinaditiocarbamato, EtDTC = dietilditiocarbamato; **Figura 26**). Los estudios biológicos realizados en células cancerosas humanas, confirmaron la actividad de inhibición del proteosoma por medio de estos complejos discretos. Sobre el mecanismo de inhibición del proteosoma, se descubrió que **14b** inhibía la actividad del proteosoma celular 26S, con mayor actividad en su parte externa 19S, y menor actividad en el núcleo 20S⁴⁹ (**figura 28a**).

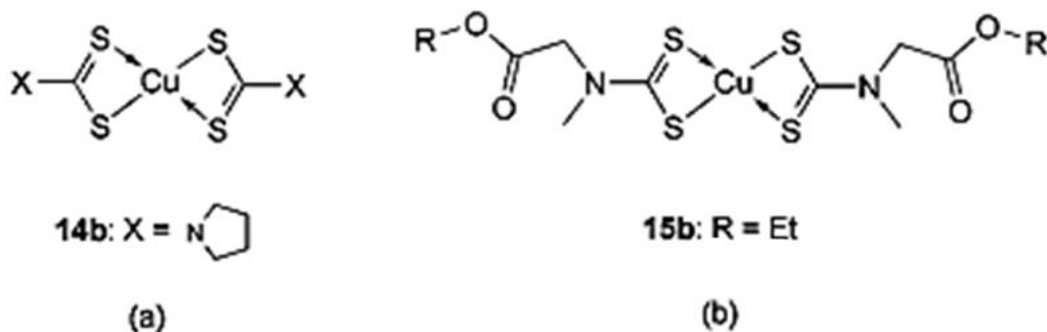


Figura 26. Estructura de (a) complejo de cobre DTC de pirrolidina **14b** y (b) complejos de cobre DTC de sarcosina, con esteres de etilo **15b**⁴⁸.

Así mismo, el complejo de tioxotriazol de cobre (II) **figura 27**, indujo muerte celular similar a la paraptótica un tipo de muerte programada morfológica y bioquímicamente diferente de la apoptosis, en un amplio panel de líneas celulares de cáncer humano. inhibiendo la actividad catalítica de los proteosomas, evitando la degradación de las proteínas mal plegadas y provocando la muerte de la célula a través del brazo promuerte del UPR203 (respuesta a proteínas desplegadas)⁵⁰ (**Figura 28b**).

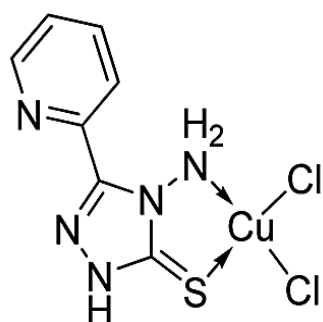


Figura 27. Estructura del complejo tioxotriazol de cobre (II).

En general, esta familia de complejos tiene una gran aplicabilidad dentro de biomedicina, todos estos complejos están sujetos a ser estudiados y modificados con ánimo de mejorar sus actividades anticancerosas y estudiar su mecanismo de acción. Es ahí donde los métodos *in silico*, tales como el acoplamiento molecular y otras técnicas de modelado permitirán seguir avanzando para desarrollar compuestos actos dentro del tratamiento contra el cáncer.

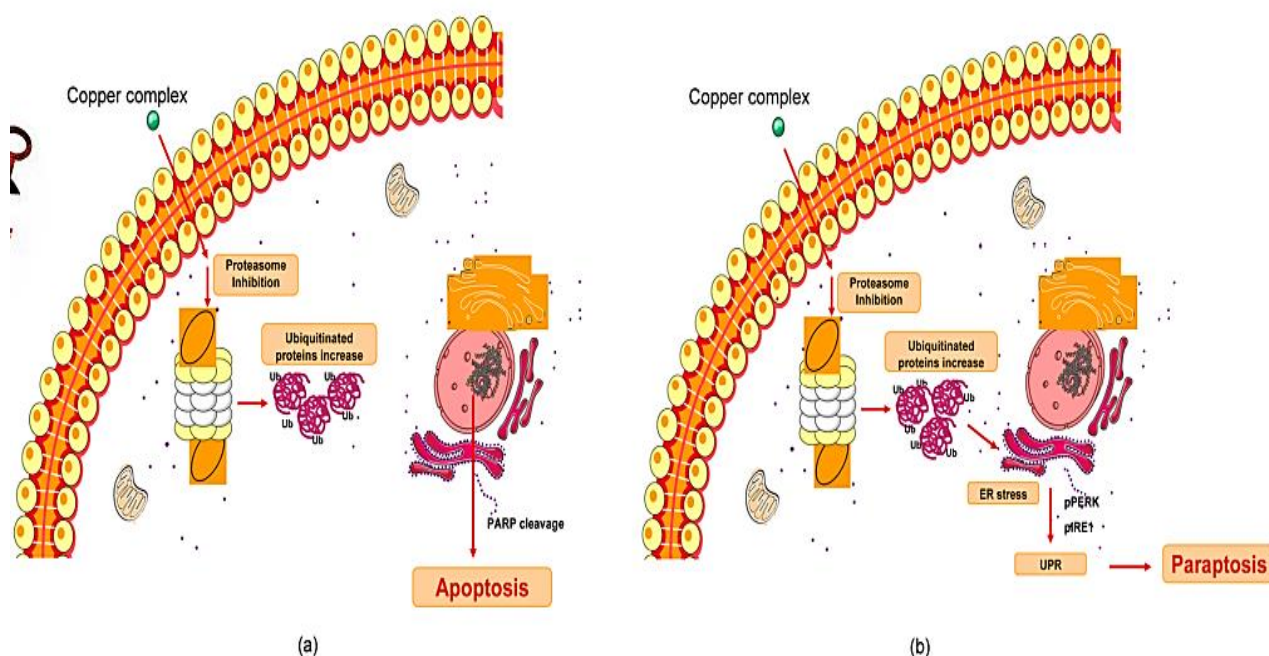


Figura 28. Esquema de las vías celulares implicadas en la inhibición del proteosoma inducida por complejos de cobre. **(a)** Apoptosis desencadenada por complejos DTC de cobre (II). **(b)** Paraptosis causada por complejos de fosfina cobre (I) y tioxotriazol cobre (II)⁴⁸.

CAPITULO III: ACOPLAMIENTO MOLECULAR DE COMPLEJOS DE PALADIO

3.1 Generalidades

Los complejos de paladio se han estudiado como una alternativa para superar las limitaciones de los compuestos basados en platino debido a su similitud estructural y termodinámica. Estos agentes experimentan reacciones de intercambio de ligandos 105 veces más rápido que los análogos de platino, y aunque esto puede ser una limitante, debido a que impediría alcanzar su objetivo biológico, suele superarse con el uso de ligandos orgánicos voluminosos y grupos salientes adecuados, dando complejos de organopaladio con resultados prometedores⁵¹.

La mayoría de estos complejos son estudiados experimentalmente, lo que conlleva un gasto considerable de dinero teniendo en cuenta que el paladio es un metal costoso, además

del uso de equipos de análisis, reactivo y grupo de trabajo. Luego la implementación del acoplamiento molecular no sustituye al proceso de experimentación, pero logra reducir los ensayos fallidos en gran medida, mostrando un camino y complementando el desarrollo de fármacos.

3.2 Complejos de paladio con ligandos de nitrógeno (N)

Recientemente, numerosos complejos de paladio con ligandos que contienen nitrógenos orgánicos mostraron ser efectivos contra tumores en humanos y tumores en animales. Tal es el caso de ligandos como piridina, quinolina, 1,10-fenantrolina y sus derivados (**figura 29**), que debido a su naturaleza plana, tienen la capacidad de ser un intercalador en el ADN⁵².

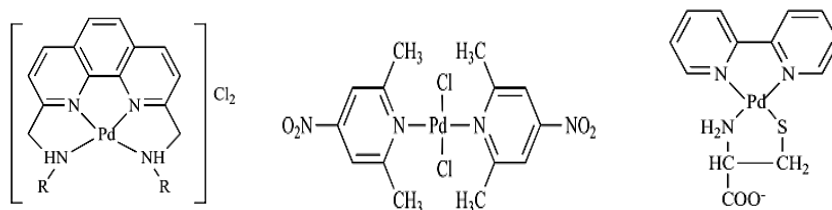


Figura 29. Complejo de paladio derivados de piridina, quinolina, 1,10-fenantrolina⁵².

Estudiar esta última característica es de vital importancia en desarrollo de este tipo de complejos, ya que, de ello depende la efectividad anticancerígena de los mismos. Experimentalmente este tipo de análisis es costoso, y se corre el riesgo de obtener resultados poco favorables, por lo que, los grupos de investigación y la mayoría de las farmacéuticas a nivel mundial utilizan el acoplamiento molecular como alternativa de ensayo, de tal manera que les permita descartar los complejos con poca actividad. En trabajos como los realizados por Dehkhodaei y colaboradores se puede observar la relevancia de esta herramienta computacional, debido a qué, se implementó para estudiar el sitio de unión de un complejo de Pd (II) de base Schiff (**figura 30**), con la HSA (albúmina sérica humana) y ADN, por medio del software Autodock 4.2.5.1⁵³.

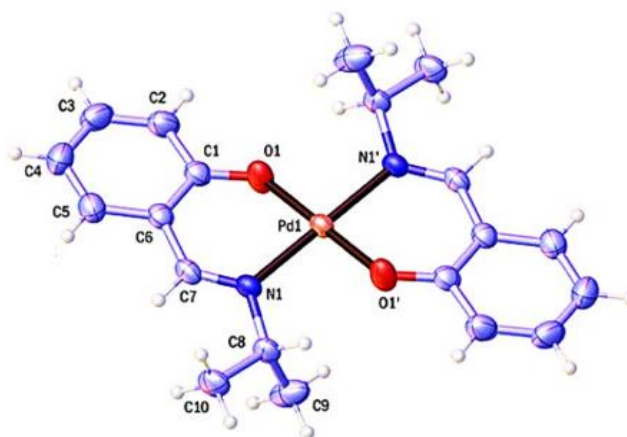


Figura 30. Representación ORTEP del complejo de Pd (II) base Schiff⁵³.

los resultados del estudio mencionado anteriormente, mostraron información de la interacción del complejo de Pd (II) base Schiff y la HSA que indican que se sitúa en el subdominio IB que se conoce como el tercer sitio de unión de fármacos de la HSA. Recordemos que esta proteína es un transportador de fármacos como la lidocaína, bilirrubina, indometacina, etc. Que posteriormente son transferidos al organismo⁵⁴.

El acoplamiento arroja una energía libre de enlace estándar ΔG° de $-8,08$ kcal/mol para esta interacción como energía mínima, la unión del complejo con la HSA se representa en la **figura 31**.

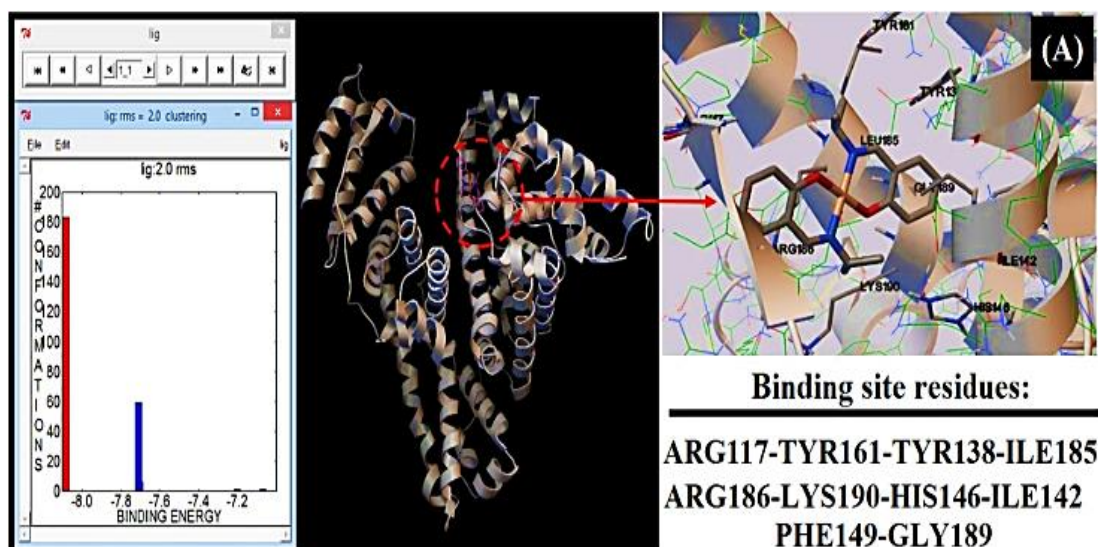


Figura 31. Ubicación del complejo de Pd(II) base Schiff y su interacción con HSA, los residuos de aminoácidos de HSA en el sitio de unión y sus grupos de acoplamiento⁵³.

Estos resultados dan una percepción de que el complejo podría ser transportado por la albúmina sérica humana en caso de ser suministrado de forma intravenosa.

Así mismo, se estudió la intercalación de este complejo al ADN, mostrando un modelo acoplado que sugiere una unión al surco menor del ADN, con un ΔG° de energía intermolecular de $-5,48$ y $-6,03$ kcal/mol, respectivamente, **figura 32**. estos resultados estuvieron de acuerdo con las mediciones hechas en los estudios de viscosidad.

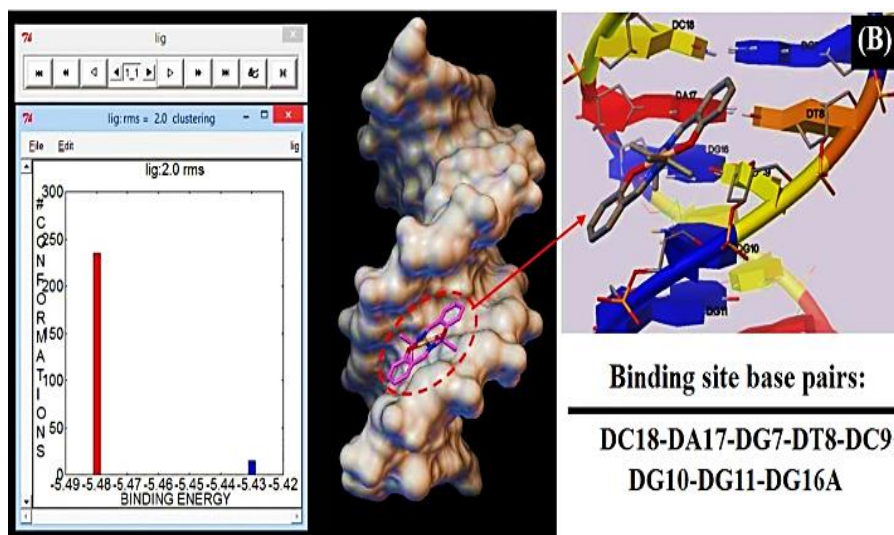


Figura 32. Ubicación del complejo de Pd(II) base de Schiff en su interacción con el ADN, los pares de bases del ADN en el sitio de unión y sus grupos de acoplamiento⁵³.

De manera general, estos resultados sugieren que este complejo podría ser prometedor a futuro si se sigue estudiando su estructura, ya que los resultados obtenidos respaldarían esta hipótesis. Es importante tener en cuenta que estos son los pasos iniciales en el largo y tortuoso camino del diseño de fármacos.

3.3 Complejos de paladio con ligando de oxígeno (O)

Con el fin de descubrir nuevos complejos para la quimioterapia con mejores propiedades en comparación con los agentes existentes y teniendo en cuenta el hecho de que algunos complejos de Pd poseen una mejor actividad antitumoral y muestran menos toxicidad renal en comparación con el cisplatino, se estudiaron una serie de complejos de paladio (II) cuadrado-planares con ligandos bidentados de 2-hidroxi-alquil (aril)-4-oxo-2-butenato de etilo sintetizados por el grupo de trabajo de Joksimović y colaboradores **figura 35**.

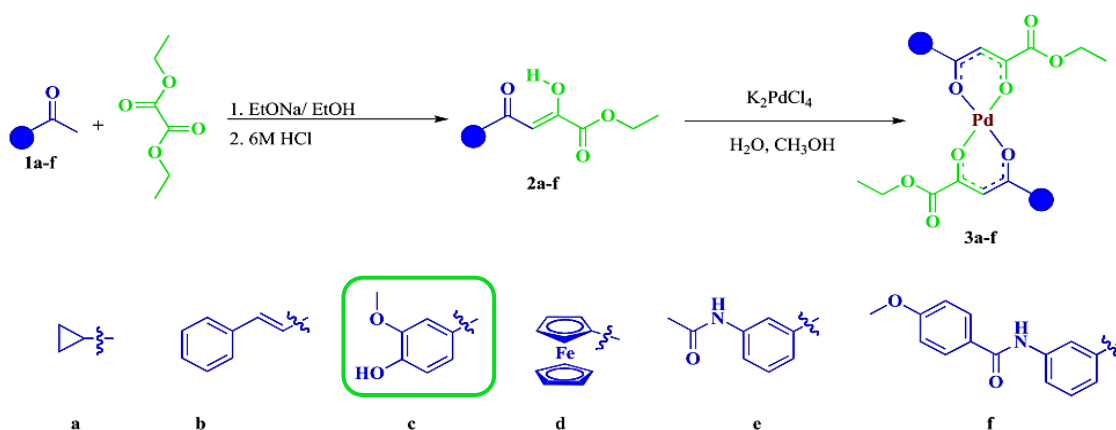


Figura 33. Síntesis de ligandos O, O-bidentados 2a-f y sus complejos de paladio (II) 3a-f⁵⁵.

En este estudio teórico-experimental se investigó el comportamiento los complejos presentados en la **figura 33**, mostrando que 3c, 3d y 3e tuvieron una mayor actividad citotóxica sobre células HeLa (cáncer de cuello uterino), con una efectividad entre 70,65 % y el 88,93 %. Luego, se escogió el complejo 3c para estudiar sus interacciones con la BSA (albúmina de suero bovino) y el ADN, por medio de acoplamiento molecular que sugiere un mecanismo aceptable para las interacciones intermoleculares del ligando con las biomoléculas.

Los resultados arrojados por el acoplamiento sugirieron los modos de unión posibles de 3c con BSA y ADN, podemos ver las interacciones de 3c con el dodecamero de ADN representados en la **figura 34**.

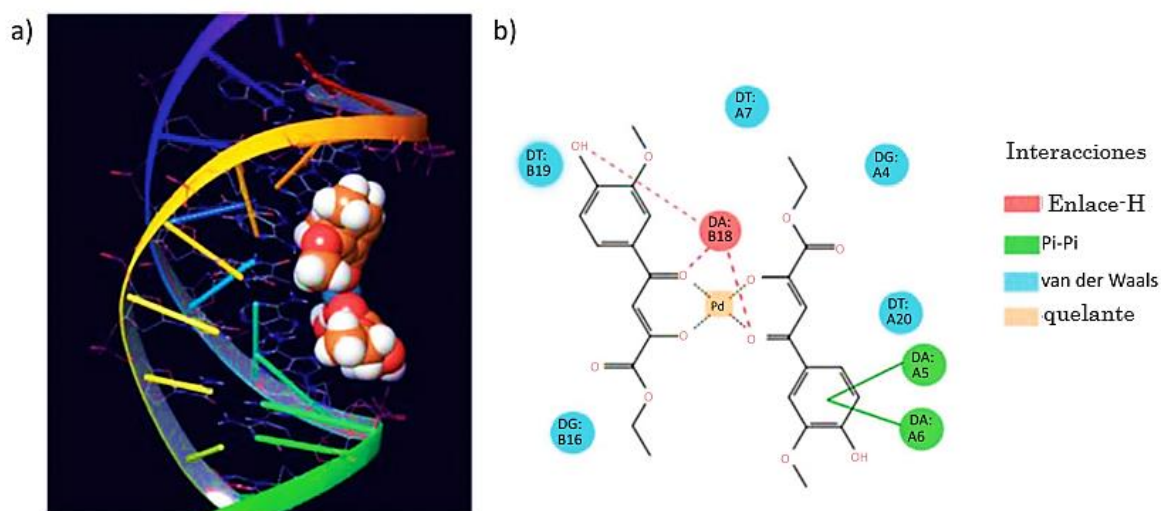


Figura 34. a) acoplamiento molecular de la 3c con el ADN, b) representación bidimensional de las interacciones⁵⁵.

Según los resultados el complejo 3c interactuó con los pares de bases del ADN, a través de interacciones de Van Der Waals, y de anillo π - π con el par de bases de adenina (DA: A5 y DA: A6), también presentó formación de enlace de hidrogeno con DA: B18. Se estimó la energía libre de unión en -58,104 kJ/mol, lo que implicaría una fuerte afinidad del complejo por el ADN.

En cuanto al análisis del complejo de 3c y la BSA, se utilizó el acoplamiento para validar los resultados experimentales y determinar los posibles modos y sitios de unión, los cuales se ilustran en la **figura 35**.

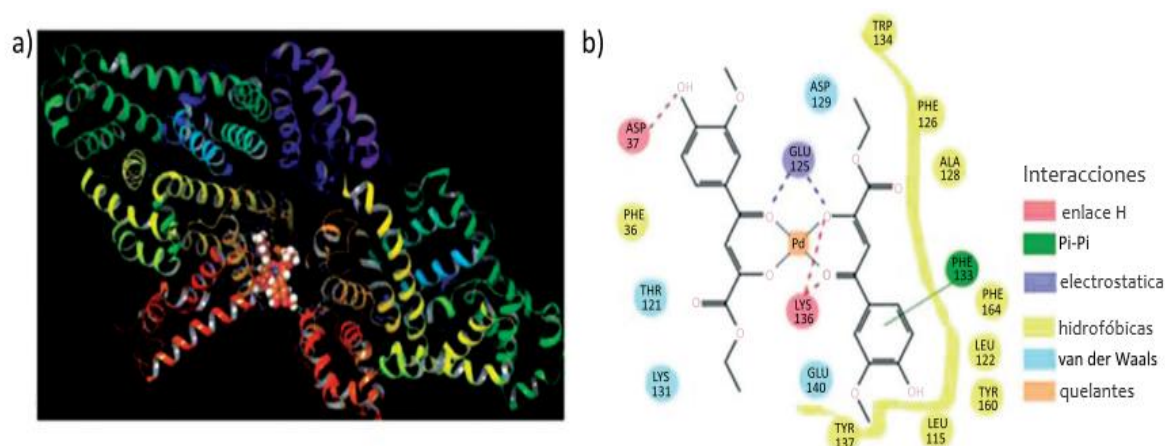


Figura 35. *a) Acoplamiento molecular de la 3c con BSA, b) Representación bidimensional de las interacciones*⁵⁵.

Aquí se evidencia que 3c se encuentra en el bolsillo de unión, ubicado en el dominio I de la BSA, formando un enlace con el grupo ácido del Asp 37 y el grupo amino de la Lys 136, esta unión se intensifica aún más gracias a las interacciones entre 3c y el Glu 125, además, se presentan interacciones π - π entre Phe 133 y uno de anillo aromático del complejo, que en conjunto con el gran bolsillo hidrofóbico, franja de color amarillo en la **figura 35b**, tienen una alta contribución en la energía de enlace general, la cual fue estimada en -58,104 kJ/mol, lo que indica una alta afinidad entre 3c y la BSA⁵⁵.

A pesar, de qué esta investigación no nos ofrece tanta información acerca de, la metodología computacional y software usado durante su realización, nos permite ver como el uso del acoplamiento molecular tiene la capacidad de direccionar la investigación en cuanto a la elección de las mejores estructuras de trabajo, ya que, sus resultados estuvieron en completa concordancia con los resultados de las técnicas experimentales usadas, las cuales, sugieren y concluyen que estos estos complejos de paladio (II) 3c y 3e tiene la capacidad de convertirse en posibles candidatos para la terapia contra el cáncer.

3.4 Complejos de paladio di y trinucleares

Empezamos esta última sección con el trabajo Čóčić y colaboradores, donde, se realizó la síntesis y caracterización de tres tipos de complejos di nucleares de Pt (II) y Pd (II), siendo este ultimo de gran importancia en esta revisión. Para su estabilización se usó un ligando de N,N,N',N'-tetrakis(2-piridilmetil) benceno-1,4-diamina. Cabe resaltar, que estos complejos polinucleares de iones metálicos se han convertido, a través de los años en agentes antitumorales prometedores. En la **figura 36** se ilustra la estructura de tales complejos.

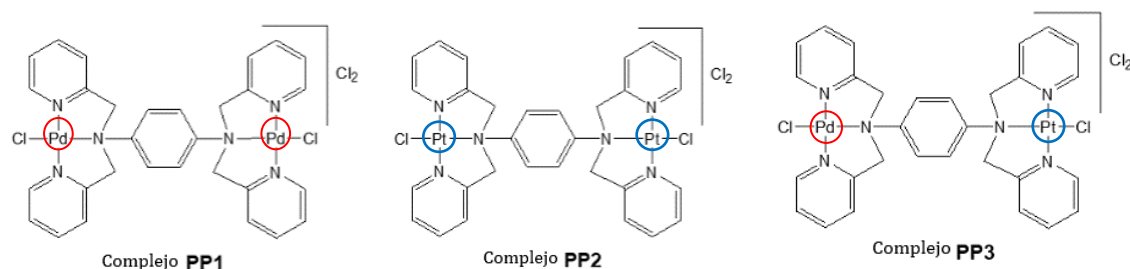


Figura 36. Estructuras de los complejos heterodinucleares⁵⁶.

En este estudio se utilizaron diferentes técnicas experimentales, tales como, valoraciones potenciométricas, espectroscopia de absorción atómica, actividad citotóxica, entre otras, con el fin de caracterizar estos complejos de la forma más completa posible. Luego, se usó el acoplamiento molecular para comparar los datos observados con los datos experimentales, de tal manera, que se pudieran develar las posibles interacciones de los complejos estudiados con el ADN y la BSA.

Para el estudio computacional, se usó el software de acoplamiento Molegro virtual Docker, con el algoritmo de búsqueda MolDock, así mismo, para visibilizar los resultados se utilizó el programa de gráficos USCF Chimera. las estructuras de los fragmentos de ADN y de la BSA, fueron tomados del banco de datos de proteínas, los resultados se ilustran en la **figura 37**⁵⁶.

Aquí se puede observar los resultados del acoplamiento molecular, para los complejo PP1, PP2 y PP3 con dos estructuras de ADN. Se estudiaron dos tipos de unión posibles en función de los hallazgos experimentales, una unión al surco menor con un ADN canónico, y una intercalación con la estructura de un ADN normal. Luego, estos estudios sugieren qué, una interacción de ranuras menores es preferible y estos resultados están en acuerdo con las mediciones de fluorescencia de unión competitiva, estos resultados resultan curiosos ya que, en la mayoría de estudios de unión siempre se presenta interacciones con el ADN del tipo intercalado.

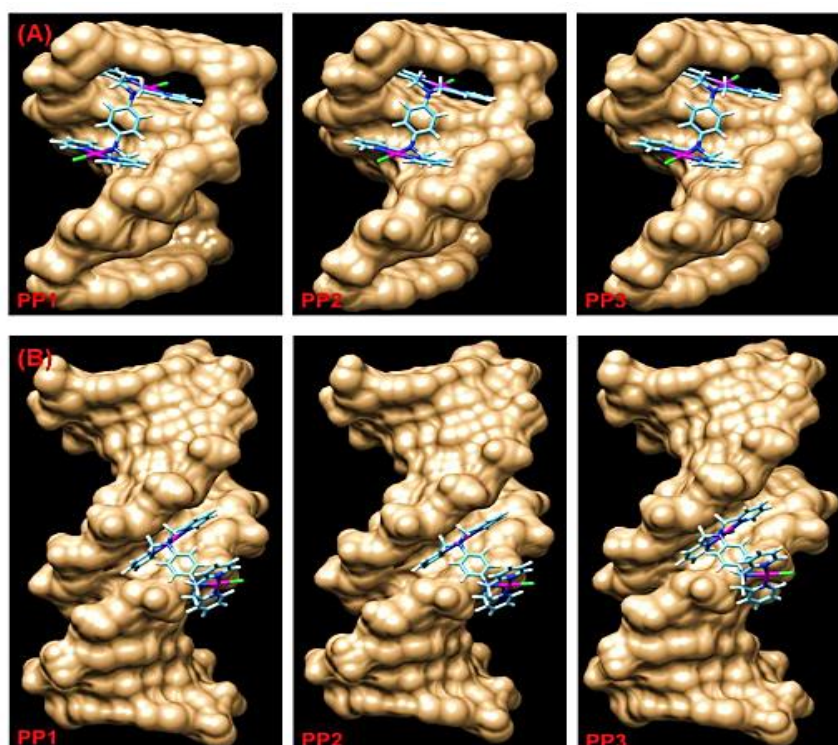


Figura 37. Acoplamiento molecular entre los complejos investigados y (A) el ADN con la brecha de intercalación (PDB ID 1Z3F); (B) ADN-B canónico (PDB ID 1BNA)⁵⁶

Así mismo, todos los complejos de este estudio se unen al subdominio IIA (sitio I) de la proteína BSA en el que encontramos al Trp-213. Estos resultados podemos verlos en la **figura 38**. A partir, de sus valores energéticos puede verse que estos complejos encajan muy bien en el bolsillo de unión de la BSA, todos exhibieron afinidades similares con valores de -137.032, -137.434 y -137.372 kJ/mol, para PP1, PP2 y PP3. Adicionalmente, los enlaces de hidrógenos formados con el residuo Arg-194 fue de gran importancia ya que, se considera que juegan un papel relevante en transporte de fármacos⁵⁶.

Hay que resaltar de esta investigación que, estos complejos dicíclicos anticancerosos también, tienen la capacidad de convertirse en buenos candidatos a estudios *in vivo*, ya que, los estudios experimentales y computacionales respaldan sus capacidades citotóxicas.

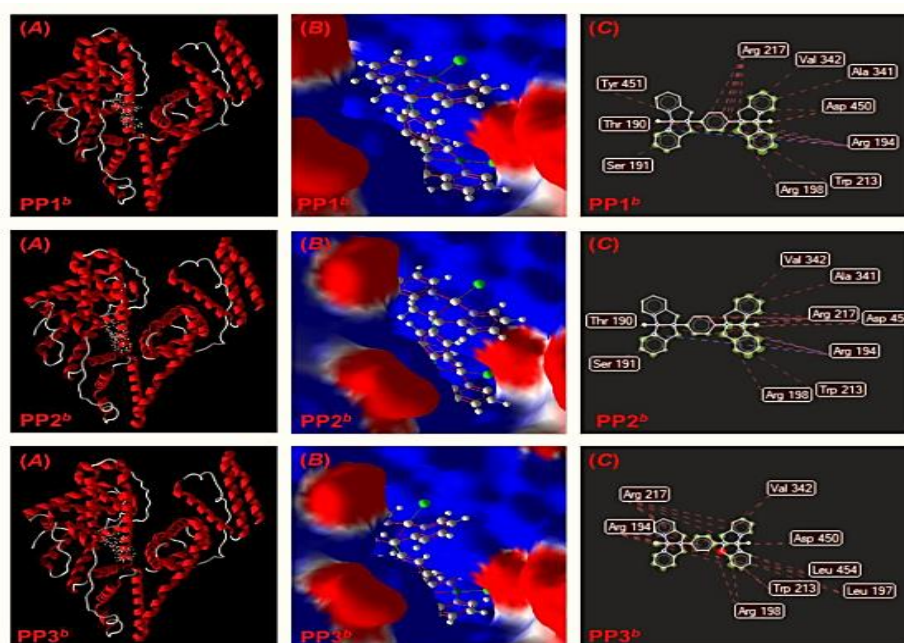


Figura 38. Resultados del acoplamiento molecular para la proteína BSA con las mejores poses para los complejos PP1, PP2 y PP3⁵⁶.

Por otro lado, en cuanto a nuestro complejo de interés PP1, mostro un comportamiento que estuvo completamente a la altura de los otros dos complejos que contenían Pt (II), mostrando la capacidad anticancerosa de los complejos derivados de Pd (II), y haciendo referencia a que puede ser un posibles sustituto de las terapias con platino en un futuro.

Ahora, siguiendo con este tipo de compuestos, estudiaremos un complejo trinuclear sintetizados por Karami y colaboradores, el cual fue caracterizado por medio de análisis elemental (IR, RMN, difracción de rayos X de monocristal), y posteriormente fue sometido a uno serie de estudios experimentales y de modelado molecular, con el fin de evaluar sus propiedades farmacológicas.

Particularmente, para esta revisión, es de gran interés los estudios de modelado molecular los cuales, implicaron el uso de acoplamiento molecular para la evaluación de las interacciones del complejo trinuclear de Pd (II), con un ligando de ariloxima **figura 39**, y las estructuras del ADN y la BSA, los cuales han sido usados de manera frecuente en las investigaciones tratadas a lo largo de este estudio.

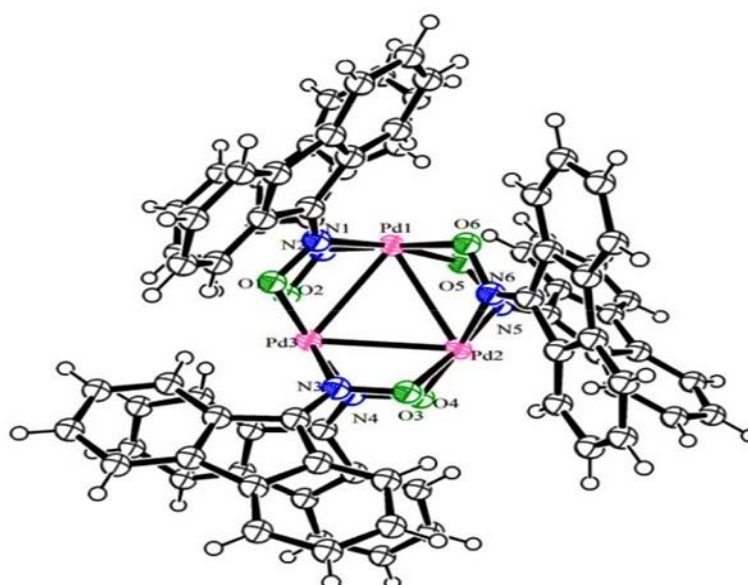


Figura 39. Estructura molecular del complejo de paladio trinuclear con su esquema de etiquetado de átomos⁵⁷.

En esta investigación se usó el paquete Autodock 4.2, las estructuras fueron obtenidas del banco de proteínas (Protein Data Bank), con los códigos 1BNA para el ADN y 4F5S para la BSA, la estructura del complejo se generó a partir de su estructura cristalina de rayos X, los resultados se visualizaron con USCF Chimera y las interacciones se trazaron con LIGPLOT+.

A continuación, se muestran los resultados obtenidos del acoplamiento entre el complejo y el ADN, las cuales, mostraron que las interacciones ocurrieron en el surco principal **figura 40A**, estas interacciones fueron seis en total y fueron de carácter hidrofóbico **figura 40B**. la energía libre de enlace se estimó en -6,54 kcal/mol⁵⁷.

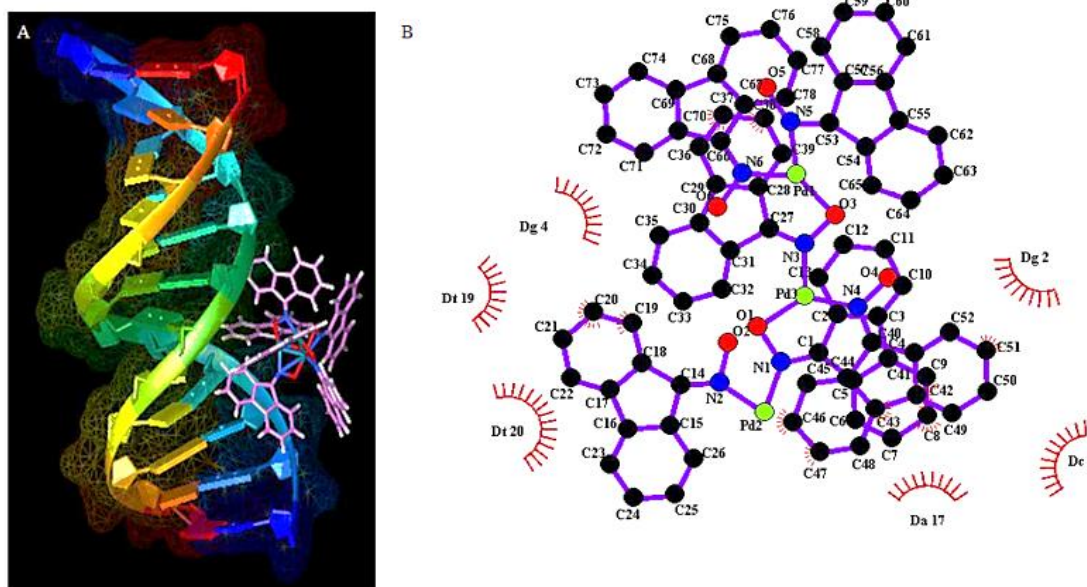


Figura 40. (A) Acoplamiento molecular del complejo Pd con el lado del surco principal del ADN, (B) interacciones bidimensionales generadas por LIGPLOT+⁵⁷.

Los resultados del acoplamiento para la BSA se ilustran en la **figura 41**, estos mostraron que el complejo de Pd prefiere el bolsillo de unión del dominio I, donde hay cinco categorías de contactos hidrofóbicos. La energía libre de unión del complejo fue estimada en -6,81 kcal/mol.

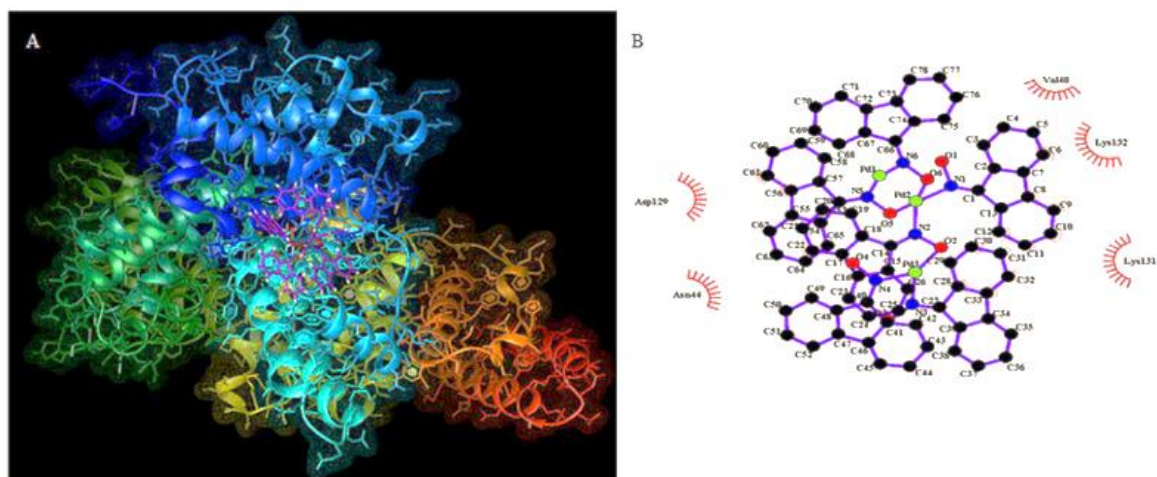


Figura 41. (A) El complejo de Pd se acopló en el bolsillo de unión de BSA (B) interacciones bidimensionales generadas por LIGPLOT+⁵⁷.

En comparación con el complejo dinuclear tratado en sección anterior, este complejo no presenta energías de unión tan bajas, por lo que, no está tan fuertemente enlazado a las estructuras de trabajo (ADN y BSA), aun así, teniendo en cuenta su complejidad estructural llama la atención su estabilidad y su capacidad farmacológica, cabe resaltar, la importancia de los ligando dentro del desarrollo de complejo prometedores, para este caso en particular, las oximas como ligandos resultan convenientes debido, a su baja toxicidad en moléculas no dianas, sus propiedades antibacterianas y antifúngicas y su alto índice de actividad antitumoral, por lo que, ha llamado la atención hacia este tipo de estudios. Por último, es innegable que los complejos derivados de Pd (II), tiene gran capacidad antitumoral, si las investigaciones avanzan en un futuro no muy lejano podrán convertirse en los sustitutos del platino.

CONCLUSIONES

El acoplamiento molecular se ha convertido en una herramienta computacional indispensable en el estudio de complejos metálicos de paladio Pd (II) con fines anticancerosos, de ahí la importancia del conocimiento de sus bases teóricas, en especial de las funciones de puntuación, ya que la confiabilidad del acoplamiento depende de su precisión. Así mismo, conocer los paquetes de programas de código abierto será de gran utilidad para aquellos grupos de investigación que deseen iniciarse en el mundo del diseño de fármacos, además, en esta revisión se habló del alcance y las limitaciones del acoplamiento molecular, donde se resalta la falta de precisión del acoplamiento en el modelado de las interacciones del complejo transtirretina-tiroxina.

Por otro lado, encontramos un gran número de estudios experimentales de complejos anticancerosos similares al Pd (II), entre los que resaltan complejo de oro (Au), cobre (Cu), rutenio (Ru), etc. Que mostraron una capacidad citotóxica considerable, además, en varios de estos estudios utilizaron acoplamiento molecular, como herramienta para describir el comportamiento de sus complejos con moléculas biológicas como el ADN o proteínas de transporte en el torrente sanguíneo. también se consultó, sobre complejos de Pt (II), los cuales, son los más utilizados en tratamiento contra el cáncer en la actualidad, al final,

guiados por las características del cisplatino, complejos como los de rutenio Ru (II), merecen ser tenidos en cuenta, ya que, sus capacidades antitumorales son altas e incluso parecidas a las del paladio, otros complejos interesantes fueron los de cobre, tal es el caso, para el complejo de tioxotriazol de cobre (II), capaz de ser un inhibidor del proteosoma y provocar un tipo de muerte celular conocida como Paraptosis, morfológica y bioquímicamente diferente de la apoptosis.

Finalmente, se analizaron investigaciones, donde se utilizó el acoplamiento molecular junto con otras técnicas experimentales para estudiar la unión a biomoléculas y la capacidad citotóxica de numerosos complejos de Pd (II), estos complejos se clasificaron de acuerdo, al tipo de átomos y al número de anillos con los que se formaban. Luego, en el análisis de resultados nos encontramos que en la mayoría de estas investigaciones se estudiaba la unión de los complejos a el ADN y a la principal proteína de transporte de moléculas en el torrente sanguíneo (HSA o BSA), con lo que, se tenía una idea de lo se conoce como mecanismo de acción. Los resultados fueron prometedores tanto para complejos que tenían nitrógenos, como para complejos que contenían oxígenos, en ambos, sus interacciones estuvieron en concordancia con los estudios experimentales y presentaron afinidades de unión negativas junto a un buen posicionamiento en los sitios de transporte de las proteínas. Lo que particularmente llamó la atención en esta revisión, fueron los comportamientos de los complejos policíclicos, tal es el caso, para los complejos dínucleares de Pd (II) y Pt (II) con un ligando de N,N,N',N'-tetrakis(2-piridilmetil)benceno-1,4-diamina, los cuales, mostraron los mejores valores de afinidad en ambas biomoléculas, resaltando la unión al surco menor del ADN que suele ser más conveniente, y pudiendo comparar un complejo de Pd (II), con uno de Pt (II), luego, ambos se ven perfilados a estudios *in vivo* y a ser posibles sustitutos de los complejos ya existente en el tratamiento contra el cáncer, así mismo, queda demostrado que la elección de buenos ligando es de vital importancia en el desarrollo de este tipo de complejo, un ejemplo de ello, se dio en el complejo trinuclear de Pd (II) con un ligando de ariloxima, donde a pesar de la complejidad estructural del complejo, este tuvo un buen comportamiento y estabilidad gracias a este compuesto.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Chaudhary KK, Mishra N. A Review on Molecular Docking: Novel Tool for Drug Discovery. *JSM Chem.* 2016;4(3):1029. www.pdb.org.
2. Dasari S, Bernard Tchounwou P. Cisplatin in cancer therapy: Molecular mechanisms of action. *Eur J Pharmacol.* 2014;740:364–378. doi:10.1016/j.ejphar.2014.07.025
3. Mukherjee S, Chowdhury S, Chattapadhyay AP, Bhattacharya A. Spectroscopic, cytotoxic and DFT studies of a luminescent palladium(II) complex of a hydrazone ligand that induces apoptosis in human prostate cancer cells. *Inorganica Chim Acta.* 2011;373(1):40–46. doi:10.1016/j.ica.2011.03.048
4. Torres PHM, Sodero ACR, Jofily P, Silva-Jr FP. Key topics in molecular docking for drug design. *Int J Mol Sci.* 2019;20(18):4574. doi:10.3390/ijms20184574
5. Banaganapalli B, Morad FA, Khan M, et al. Molecular Docking. En: *Essentials of Bioinformatics, Volume I*. Springer International Publishing; 2019:335–353. doi:10.1007/978-3-030-02634-9_15
6. Velásquez M, Drosos J, Gueto C, Márquez J, Vivas-Reyes R. Metodo acoplado Autodock-PM6 para seleccionar la mejor pose en estudios. *Rev Colomb Quim.* 2013;42(1):1–8.
7. Dastmalchi S, Hamzeh-Mivehroud M, Sokouti B. Methods and Algorithms for Molecular Docking-Based Drug Design and Discovery (Advances in Chemical and Materials Engineering). 2016;(February 2018):456.
8. Liu W, Liu G, Zhou H, Fang X, Fang Y, Wu J. Computer prediction of paratope on antithrombotic antibody 10B12 and epitope on platelet glycoprotein VI via molecular dynamics simulation. *Biomed Eng Online.* 2016;15(S2):152. doi:10.1186/s12938-016-0272-0
9. Tao X, Huang Y, Wang C, et al. Recent developments in molecular docking technology applied in food science: a review. *Int J Food Sci Technol.* 2020;55(1):33–45. doi:10.1111/ijfs.14325
10. Pagadala NS, Syed K, Tuszynski J. Software for molecular docking: a review.

11. Yuriev E, Agostino M, Ramsland PA. Challenges and advances in computational docking: 2009 in review. *J Mol Recognit.* 2011;24(2):149–164. doi:10.1002/jmr.1077
12. Sousa SF, Fernandes PA, Ramos MJ. Protein-ligand docking: Current status and future challenges. *Proteins Struct Funct Genet.* 2006;65(1):15–26. doi:10.1002/prot.21082
13. Ferreira LG, Dos Santos RN, Oliva G, Andricopulo AD. Molecular docking and structure-based drug design strategies. *Molecules.* 2015;20(7):13384–13421. doi:10.3390/molecules200713384
14. Gorelik B, Goldblum A. High quality binding modes in docking ligands to proteins. *Proteins Struct Funct Genet.* 2008;71(3):1373–1386. doi:10.1002/prot.21847
15. Dias R, Filgueira W, Jr DA. Molecular Docking Algorithms. Published online 2008:1040–1047.
16. Chen R, Li L, Weng Z. ZDOCK: An initial-stage protein-docking algorithm. *Proteins Struct Funct Genet.* 2003;52(1):80–87. doi:10.1002/prot.10389
17. Lang PT, Brozell SR, Mukherjee S, et al. DOCK 6: Combining techniques to model RNA–small molecule complexes. *RNA.* 2009;15(6):1219–1230. doi:10.1261/RNA.1563609
18. Huang S-Y, Zou X. Advances and Challenges in Protein-Ligand Docking. *Int J Mol Sci.* 2010;11:3016–3034. doi:10.3390/ijms11083016
19. Sethi A, Joshi K, Sasikala K, Alvala M. Molecular Docking in Modern Drug Discovery: Principles and Recent Applications. En: *Drug Discovery and Development - New Advances.* IntechOpen; 2020. doi:10.5772/intechopen.85991
20. Meng X-Y, Zhang H-X, Mezei M, Cui M. Molecular Docking: A Powerful Approach for Structure-Based Drug Discovery. *Curr Comput Aided-Drug Des.* 2012;7(2):146–157. doi:10.2174/157340911795677602
21. Liao C, Sitzmann M, Pugliese A, Nicklaus MC. Software and resources for computational medicinal chemistry. *Future Med Chem.* 2011;3(8):1057–1085.

doi:10.4155/fmc.11.63

22. Li J, Fu A, Zhang L. An Overview of Scoring Functions Used for Protein–Ligand Interactions in Molecular Docking. *Interdiscip Sci Comput Life Sci*. 2019;11(2):320–328. doi:10.1007/s12539-019-00327-w
23. Chen F, Liu H, Sun H, et al. Assessing the performance of the MM/PBSA and MM/GBSA methods. 6. Capability to predict protein-protein binding free energies and re-rank binding poses generated by protein-protein docking. *Phys Chem Chem Phys*. 2016;18(32):22129–22139. doi:10.1039/c6cp03670h
24. Kulik HJ. Large-scale QM/MM free energy simulations of enzyme catalysis reveal the influence of charge transfer. *Phys Chem Chem Phys*. 2018;20(31):20650–20660. doi:10.1039/c8cp03871f
25. Chaskar P, Zoete V, Röhrig UF. Toward on-the-fly quantum mechanical/molecular mechanical (QM/MM) docking: Development and benchmark of a scoring function. *J Chem Inf Model*. 2014;54(11):3137–3152. doi:10.1021/ci5004152
26. Zheng Z, Merz KM. Ligand Identification Scoring Algorithm (LISA). *J Chem Inf Model*. 2011;51(6):1296–1306. doi:10.1021/ci2000665
27. Kadukova M, Grudinin S. Convex-PL: a novel knowledge-based potential for protein-ligand interactions deduced from structural databases using convex optimization. *J Comput Aided Mol Des*. 2017;31(10):943–958. doi:10.1007/s10822-017-0068-8
28. Murray CW, Auton TR, Eldridge MD. Empirical scoring functions. II. The testing of an empirical scoring function for the prediction of ligand-receptor binding affinities and the use of Bayesian regression to improve the quality of the model. *J Comput Aided Mol Des*. 1998;12(5):503–519. doi:10.1023/A:1008040323669
29. Liu J, Wang R. Classification of current scoring functions. *J Chem Inf Model*. 2015;55(3):475–482. doi:10.1021/ci500731a
30. Cross JB, Thompson DC, Rai BK, et al. Comparison of several molecular docking programs: Pose prediction and virtual screening accuracy. *J Chem Inf Model*. 2009;49(6):1455–1474. doi:10.1021/CI900056C/SUPPL_FILE/CI900056C_SI_001.PDF

31. Liu Z, Liu Y, Zeng G, et al. Application of molecular docking for the degradation of organic pollutants in the environmental remediation: A review. *Chemosphere*. 2018;203:139–150. doi:10.1016/J.CHEMOSPHERE.2018.03.179
32. Sci-Hub | Challenges and advances in computational docking: 2009 in review. *Journal of Molecular Recognition*, 24(2), 149–164 | 10.1002/jmr.1077. Consultado diciembre 16, 2021. <https://sci-hub.se/10.1002/jmr.1077>
33. Verkhivker GM, Bouzida D, Gehlhaar DK, et al. Deciphering common failures in molecular docking of ligand-protein complexes. *J Comput Mol Des* 2000 148. 2000;14(8):731–751. doi:10.1023/A:1008158231558
34. Sehnal D, Bittrich S, Deshpande M, et al. Mol*Viewer: Modern web app for 3D visualization and analysis of large biomolecular structures. *RAT TRANSTHYRETIN COMPLEX WITH THYROXINE*. 2021;49(W1):W431–W437. doi:10.1093/NAR/GKAB314
35. Bruijninx PC, Sadler PJ, David S, Meggers E. New trends for metal complexes with anticancer activity This review comes from a themed issue on Bioinorganic Chemistry Edited by. *Curr Opin Chem Biol*. 2008;12:197–206. doi:10.1016/j.cbpa.2007.11.013
36. Dorotíková S, Kožíšková J, Malček M, et al. Copper(II) complexes with new fluoroquinolones: Synthesis, structure, spectroscopic and theoretical study, DNA damage, cytotoxicity and antiviral activity. *J Inorg Biochem*. 2015;150:160–173. doi:10.1016/j.jinorgbio.2015.06.017
37. Rodríguez Gómez M, Rodríguez Gómez M. Uso de cisplatino y derivados de platino en quimioterapia. Published online 2017.
38. Cutillas N, Yellol GS, Haro C De, Vicente C, Rodríguez V, Ruiz J. Ac ce p te us ip t. *Coord Chem Rev*. Published online 2013. doi:10.1016/j.ccr.2013.03.024
39. Abazari O, Shafaei Z, Divsalar A, et al. Interaction of the synthesized anticancer compound of the methyl-glycine 1,10-phenanthroline platinum nitrate with human serum albumin and human hemoglobin proteins by spectroscopy methods and molecular docking. *J Iran Chem Soc*. 2020;17(7):1601–1614. doi:10.1007/S13738-020-01879-1

40. Antonarakis ES, Emadi A. Ruthenium-based chemotherapeutics: are they ready for prime time? *Cancer Chemother Pharmacol* 2010 661. 2010;66(1):1–9. doi:10.1007/S00280-010-1293-1
41. Rademaker-Lakhai JM, Van Den Bongard D, Pluim D, Beijnen JH, Schellens JHM. A Phase I and Pharmacological Study with Imidazolium-trans-DMSO-imidazole-tetrachlororuthenate, a Novel Ruthenium Anticancer Agent. *Clin Cancer Res*. 2004;10(11):3717–3727. doi:10.1158/1078-0432.CCR-03-0746
42. Tang B, Shen F, Wan D, et al. DNA-binding, molecular docking studies and biological activity studies of ruthenium(II) polypyridyl complexes †. Published online 2017. doi:10.1039/c7ra05103d
43. Thioredoxin reductase and cancer cell growth inhibition by o... : Anti-Cancer Drugs. Consultado marzo 1, 2022. https://journals.lww.com/anti-cancerdrugs/Abstract/2006/06000/Thioredoxin_reductase_and_cancer_cell_growth.7.aspx
44. Zhang J-J, Sun RW-Y, Che C-M. A dual cytotoxic and anti-angiogenic water-soluble gold(III) complex induces endoplasmic reticulum damage in HeLa cells. *Chem Commun*. 2012;48(28):3388–3390. doi:10.1039/C2CC00029F
45. Vela L, Contel M, Palomera L, Azaceta G, Marzo I. Iminophosphorane–organogold(III) complexes induce cell death through mitochondrial ROS production. *J Inorg Biochem*. 2011;105(10):1306–1313. doi:10.1016/J.JINORGBIO.2011.06.004
46. Sankarganesh M, Raja JD, Revathi N, Solomon RV, Kumar RS. Gold(III) complex from pyrimidine and morpholine analogue Schiff base ligand: Synthesis, characterization, DFT, TDDFT, catalytic, anticancer, molecular modeling with DNA and BSA and DNA binding studies. *J Mol Liq*. 2019;294. doi:10.1016/J.MOLLIQ.2019.111655
47. Jia P, Ouyang R, Cao P, et al. Review: recent advances and future development of metal complexes as anticancer agents. *J Coord Chem*. 2017;70(13):2175–2201. doi:10.1080/00958972.2017.1349313
48. Santini C, Pellei M, Gandin V, Porchia M, Tisato F, Marzano C. Advances in copper complexes as anticancer agents. *Chem Rev*. 2014;114(1):815–862.

doi:10.1021/CR400135X

49. Frezza M, Hindo S, Chen D, et al. Novel Metals and Metal Complexes as Platforms for Cancer Therapy. *Curr Pharm Des.* 2010;16(16):1813–1825. doi:10.2174/138161210791209009
50. Tardito S, Isella C, Medico E, et al. The thioxotriazole copper (II) complex A0 induces endoplasmic reticulum stress and paraptotic death in human cancer cells. *J Biol Chem.* 2009;284(36):24306–24319. doi:10.1074/JBC.M109.026583/ATTACHMENT/C66D84DE-BF81-4D31-A1BB-672A33D50675/MMC1.ZIP
51. Keswani T, Chowdhury S, Mukherjee S, Bhattacharyya A. Palladium(II) complex induces apoptosis through ROS-mediated mitochondrial pathway in human lung adenocarcinoma cell line (A549). *Curr Sci.* 2014;107(10):1711–1719.
52. Gao E, Liu C, Zhu M, Lin H, Wu Q, Liu L. Current Development of Pd(II) Complexes as Potential Antitumor Agents. Consultado octubre 19, 2019. <https://www.ingentaconnect.com/content/ben/acamc/2009/00000009/00000003/art00008>
53. Dehkhodaei M, Sahihi M, Rudbari HA, et al. Multi experimental and computational studies for DNA and HSA interaction of new nano-scale ultrasound-assisted synthesized Pd(II) complex as a potent anticancer drug. *J Mol Liq.* 2018;264:386–397. doi:10.1016/j.molliq.2018.05.077
54. Varshney A, Sen P, Ahmad E, Rehan M, Subbarao N, Khan RH. Ligand binding strategies of human serum albumin: How can the cargo be utilized? *Chirality.* 2010;22(1):77–87. doi:10.1002/CHIR.20709
55. Joksimović N, Janković N, Petronijević J, et al. Synthesis, Anticancer Evaluation and Synergistic Effects with cis platin of Novel Palladium Complexes: DNA, BSA Interactions and Molecular Docking Study . *Med Chem (Los Angeles).* 2019;16(1):78–92. doi:10.2174/1573406415666190128095732
56. Cócíc D, Jovanović-Stević S, Jelić R, et al. Homo- And hetero-dinuclear Pt(ii)/Pd(ii) complexes: Studies of hydrolysis, nucleophilic substitution reactions, DNA/BSA interactions, DFT calculations, molecular docking and cytotoxic activity. *Dalt Trans.* 2020;49(41):14411–14431. doi:10.1039/d0dt02906h

57. Karami K, Mehri Lighvan Z, Alizadeh AM, Poshteh-Shirani M, Khayamian T, Lipkowski J. Synthesis of a novel trinuclear palladium complex: The influence of an oxime chelate ligand on biological evaluation towards double-strand DNA, BSA protein and molecular modeling studies. *RSC Adv.* 2016;6(82):78424–78435. doi:10.1039/c6ra08744b
58. Subhani S, Jayaraman A, Jamil K. Homology modelling and molecular docking of MDR1 with chemotherapeutic agents in non-small cell lung cancer. *Biomed Pharmacother.* 2015;71:37–45. doi:10.1016/j.biopha.2015.02.009
59. Fan J, Fu A, Zhang L. Progress in molecular docking. *Quant Biol.* 2019;7(2):83–89. doi:10.1007/s40484-019-0172-y