

Identificación de inhibidores de PI3K α mediante diseño de farmacóforos y reposicionamiento farmacológico[†]

Paolo Wong Chero ^{1,a}; Daniel Ramírez Lupuche ^{1,b}; Richard Zapata Dongo ^{1,c}; Brenda Moy Díaz ^{1,d}; Stefany Infante Varillas ^{1,e}; Juan Faya Castillo* ^{1,f}

RESUMEN

Objetivo: PI3K es una de las proteínas más comunes que sufren mutaciones en el cáncer, ello genera que se altere su función en la regulación del metabolismo, la inmunidad, entre otros. A pesar de haberse identificado fármacos específicos para la PI-3K, se ha evidenciado una resistencia notable a estas terapias. Por tal razón, la búsqueda de nuevos inhibidores es de vital importancia. Este proyecto propone una estrategia basada en herramientas computacionales *in silico* para el cribado de fármacos previamente aprobados por la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA, por sus siglas en inglés), con el objetivo de evaluar la posibilidad de su uso en el reposicionamiento farmacológico.

Materiales y métodos: Este estudio obtuvo la secuencia de PI3K α de la base de datos UniProt y su estructura tridimensional de AlphaFold. Posteriormente, se realizó un acoplamiento con el adenosín trifosfato (ATP, por sus siglas en inglés) y sus inhibidores selectivos: inavolisib, tasisib, CH5132799, alpelisib y ZSTK474. El análisis de las interacciones fármaco-proteína se realizó en el programa PLIP, y la visualización en PyMol. Con esta información se generaron los farmacóforos, que servirían de modelo para ejecutar un cribado virtual con el programa PHARMIT, utilizando la biblioteca de medicamentos aprobados por la FDA (<https://pharmit.csb.pitt.edu/search.html>).

Resultados: Basado en la interacción de los inhibidores selectivos de PI3K α , se obtuvieron las posiciones atomísticas claves de la interacción fármaco-proteína y, de esta manera, se generaron nueve farmacóforos. Mediante el cribado virtual se identificaron 22 fármacos que cumplían las características propuestas. Con respecto a la energía de unión, 10 de los fármacos tenían valores de kcal/mol iguales o superiores a los inhibidores de PI3K α . Finalmente, se seleccionaron tres fármacos que podrían usarse para el reposicionamiento farmacológico.

Conclusiones: Este estudio propone al fostamatinib, al pralatrexato y al entecavir como candidatos potenciales para el reposicionamiento farmacológico. Adicionalmente, se sugiere que los nueve farmacóforos creados puedan utilizarse en otras bases de datos farmacológicas, para así identificar nuevas moléculas y/o fármacos que podrían usarse en el reposicionamiento farmacológico. Se insta a continuar con los estudios *in silico* e *in vitro* de los fármacos propuestos.

Palabras clave: PI-3K; Simulación del Acoplamiento Molecular; Bioinformática; Cáncer; Farmacóforo (Fuente: DeCS BIREME).

Identification of PI3K α inhibitors through pharmacophore design and drug repositioning[†]

ABSTRACT

Objective: PI3K is one of the most frequently mutated proteins in cancer, resulting in changes to its functions in regulating metabolism, immunity, among others. Despite the identification of specific drugs targeting PI3K, significant resistance to these therapies has been observed. Therefore, the search for new inhibitors is crucial. This project proposes a strategy based on *in silico* computational tools for screening Food and Drug Administration (FDA)-approved drugs, aiming to evaluate their potential for drug repositioning.

Materials and methods: This study obtained the sequence of PI3K α from UniProt Knowledgebase and its three-dimensional structure from AlphaFold Protein Structure Database, which were then coupled with adenosine triphosphate (ATP) and its selective inhibitors: inavolisib, tasisib, CH5132799, alpelisib and ZSTK474. Drug-protein interaction analysis was performed using Protein-Ligand Interaction Profiler (PLIP) and its visualization was done in PyMOL. Based on this information, pharmacophores were generated as models for virtual screening using PHARMIT and the FDA-approved drug library (<https://pharmit.csb.pitt.edu/search.html>).

Results: Key atomistic positions of drug-protein interactions were identified based on the selective PI3K α inhibitors

1 Universidad de Piura, Facultad de Medicina Humana, Lima, Perú.

^a Médico, magister en Investigación Biomédica; ^b estudiante de Medicina Humana; ^c biólogo, magister en Investigación Biomédica; ^d química farmacéutica; ^e bióloga microbióloga, magister en Investigación Biomédica; ^f biólogo, magister en Ciencias en Bioinformática.

*Autor corresponsal.

interaction, leading to the generation of nine pharmacophores. A virtual screening resulted in 22 drugs that met the proposed criteria, out of which 10 had binding energy values (kcal/mol) equal to or higher than the PI3K α inhibitors. Subsequently, three drugs with potential use for drug repositioning were selected.

Conclusions: This study proposes fostamatinib, pralatrexate and entecavir as possible candidates for drug repositioning. Additionally, the nine pharmacophores can be utilized in other drug databases for identifying new molecules and/or drugs with potential for drug repositioning. Further *in silico* and *in vitro* studies of the proposed drugs are recommended.

Keywords: PI-3K, Molecular Docking Simulation; Computational Biology; Neoplasms; Pharmacophore (Source: MeSH NLM).

INTRODUCCIÓN

La gran variabilidad patológica del cáncer y su creciente resistencia farmacológica están limitando cada vez más la eficacia de muchos tratamientos y empeorando el pronóstico de los pacientes ⁽¹⁾. En la búsqueda de nuevas estrategias terapéuticas para superar estas dificultades, diversos estudios se vienen enfocando en las vías metabólicas que están comprendidas en el desarrollo y progresión del cáncer, para así encontrar posibles puntos de bloqueo metabólico y detener su avance. Entre esos posibles blancos se encuentra la proteína fosfatidilinositol-3-quinasa (PI-3K). Esta enzima cumple un papel importante en la regulación del metabolismo, la inmunidad y otras funciones celulares; al mismo tiempo, se conoce que el gen PIK3CA es uno de los más comunes que sufre mutaciones en el cáncer (14 % en todos los cánceres), por lo que ya se han desarrollado fármacos dirigidos contra PI-3K en los últimos años ⁽¹⁻³⁾. Se espera que los paninhibidores de la PI-3K puedan ayudar a superar la resistencia del cáncer a una amplia variedad de terapias como la quimioterapia, la radiación y las terapias dirigidas ^(4,5).

La PI-3K es una familia de quinasas de lípidos que se clasifican en tres clases: I, II, y III, donde la clase I se subdivide en dos subtipos A y B ⁽⁶⁾. Son transductores de señales de algunos receptores tirosina quinasa, receptores acoplados a las proteínas G y GTPasas, que regulan, finalmente, diversos procesos celulares como el crecimiento, proliferación, diferenciación, migración, movilidad y apoptosis ^(1,2). Las PI-3K de la clase IA están conformadas por una subunidad reguladora p85 (p85 α , p85B, p55 α , p55 γ , p50 α) y una catalítica p110 (p110 α , p110B, p110 γ , p110 δ) ⁽⁶⁾. La subunidad catalítica p110 consiste en un dominio de unión al adaptador (ADP), un dominio de unión a RAS (RBD), un dominio C₂ de unión a membrana (C₂), un dominio helicoidal y un dominio catalítico C-terminal (secciones N y C-terminal), el cual alberga la región bisagra donde se une el adenosín trifosfato (ATP, por sus siglas en inglés) ⁽²⁾. Por otra parte, la subunidad reguladora p85 está compuesta de los dominios SH3, regiones de homología-punto de ruptura (BH), iSH2, cSH2 y nSH2, los cuales deben separarse de la subunidad p110 para poder activar PI-3K ⁽⁴⁾. Las mutaciones en PI3K que generan una transformación oncogénica están

albergadas en la subunidad catalítica p110 y en los dominios RBD, helicoidal (E542K, E545K) y catalítico (H1047R) ⁽⁷⁾. Las mutaciones somáticas confieren una ganancia de función que conlleva un exceso de actividad por parte de PI-3K ⁽⁴⁾, y potencia los eventos de activación entre p110 y p85 ⁽²⁾. Adicionalmente, se ha observado que cuando se elimina la actividad de PI-3K, el crecimiento del tumor se detiene ⁽⁸⁾.

Con base en la caracterización de la estructura de PI-3K y de su efecto citostático al ser inhibido, se han desarrollado fármacos para lograr la estabilización del tumor ⁽²⁾. Estos fármacos son generalmente inhibidores competitivos del ATP y pueden clasificarse en paninhibidores, inhibidores específicos e inhibidores duales de PI3K/mTOR ⁽⁶⁾. Los primeros inhibidores (paninhibidores) desarrollados fueron la wortmanina y el LY294002 ^(9,10); luego, en 2014, el idelalisib (inhibidor de PI3K δ) se convirtió en el primer inhibidor de PI3K aprobado ⁽²⁾. Hasta la fecha, existen cinco inhibidores de PI-3K aprobados por la FDA: copanlisib, idelalisib, umbralisib, duvelisib y alpelisib ⁽⁶⁾. A pesar de ello, algunas limitaciones han dificultado la realización de los ensayos clínicos y la aprobación de estos fármacos, como la baja tolerancia a los paninhibidores e inhibidores duales de PI3K α /PI3K δ , la resistencia farmacológica intrínseca y adquirida y los bucles de retroalimentación de señalización que neutralizan la inhibición de PI3K ⁽²⁾. Sumado a esta situación, existe también la dificultad para alcanzar la selectividad de isoforma, incluso los actuales inhibidores aprobados pueden afectar a más de una isoforma PI-3K en el entorno clínico ⁽²⁾.

Dentro de los diferentes mecanismos por los que el cáncer desarrolla resistencia a los inhibidores de PI-3K destacan las mutaciones y amplificación de PI-3K, la toxicidad farmacológica, la retroalimentación positiva que conduce a mecanismos compensatorios, el ácido ribonucleico (ARN) no codificante que regula la señalización de PI-3K, el aumento de la producción de insulina y otros mecanismos misceláneos ⁽⁶⁾. Por esta razón, además de la baja selectividad de isoforma, se ha motivado la búsqueda de nuevos fármacos que puedan ayudar a resolver estos problemas. En este estudio, se utilizan técnicas de reposicionamiento farmacológico *in*

silico para encontrar la actividad inhibitoria de PI-3K en fármacos aprobados por la FDA que originalmente no fueron diseñados para esta indicación ⁽¹¹⁾. Se ha empleado una aproximación computacional para identificar rápidamente los fármacos que podrían inhibir competitivamente a PI-3K, utilizando nueve modelos de farmacóforos diferentes. Esta aproximación ofrece un método de bajo costo y rápido para sugerir fármacos, además de contar con información de su seguridad, que ha sido ampliamente estudiada en estudios preclínicos y clínicos necesarios para su aprobación ⁽¹¹⁾.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño y población de estudio

El presente estudio es de tipo descriptivo y se llevó a cabo mediante ensayos *in silico* en los laboratorios de la Universidad de Piura. Los estudios *in silico* utilizaron aproximaciones y herramientas bioinformáticas especializadas, y se consideró como población el dominio catalítico de PI-3K. Para obtener la estructura de PI3K α (p110), primero se usó la base de datos UniProt (código: P42336) como referencia, ya que las estructuras que están cristalizadas en RCSB-PDB (www.rcsb.org) estaban incompletas. El modelo final del dominio catalítico de PI3K α se obtuvo de Alpha Fold (<https://alphafold.ebi.ac.uk/>), el cual tiene un nivel de confianza alto.

En la literatura se identificaron los inhibidores de PI3K α y, posteriormente, se encontró su estructura cocrystalizada con estos en el RCSB-PDB (inavalisib: 8EXV, tasesilib: 8EXL, CH5132799: 3APC, alpesilib: 7MYO, ZSTK474: 2WXL). Luego, se alineó cada estructura con el modelo de Alpha Fold en PyMOL. Se eliminó el PI3K α cocrystalizado, y solo se conservó la estructura del inhibidor en complejo con el modelo de Alpha Fold. El mismo proceso se realizó con la estructura cocrystalizada que contiene ATP (PDB: 1E8X).

Variables y mediciones

Los ensayos de aproximación *in silico* consideraron varias variables: los fármacos aprobados por la FDA obtenidos mediante cribado virtual, las energías de unión en kcal/mol derivadas del acoplamiento molecular entre el dominio catalítico de PI-3K y los fármacos, así como los aminoácidos involucrados en la interacción fármaco-proteína.

Para la realización del cribado virtual, se fabricaron farmacóforos usando el servidor web Pharmit (<http://pharmit.csb.pitt.edu/>). Cada farmacóforo se construyó con cinco posiciones claves. Estas posiciones fueron decididas en base a las interacciones inhibidor-proteína (inavalisib, tasesilib, alpesilib, CH5132799 y ZSTK474) más importantes, obtenidas en el servidor web PLIP (<https://plip-tool.biotec.tu-dresden.de/plip-web/plip/index>).

Se complementó con la búsqueda en la literatura acerca de las regiones y los aminoácidos claves en el proceso de fosforilación entre ATP y PI3K α . Con esta información se definieron las posiciones claves y se obtuvieron sus coordenadas XYZ en Pharmit y PyMOL. El cribado virtual se realizó utilizando la biblioteca de medicamentos aprobados por la FDA. Se consideró una tolerancia de 0,5 en la opción "Receptor-Exclusive shape" para restringir el tamaño de la molécula al bolsillo de unión del ATP.

Las energías de unión se obtuvieron usando el programa YASARA, mediante la opción "BindEnergy". Para este procedimiento, primero se limpiaron las estructuras utilizando la opción "Clean" y se añadieron los hidrógenos faltantes con la opción "AddHydr". Luego, alrededor del sistema se creó una caja de 10 Å para cubrir toda la proteína y, finalmente, se llevó a cabo una minimización de energía seguida del acomplamiento. Los aminoácidos de las interacciones fármaco-proteína se obtuvieron del servidor web PLIP.

Análisis estadístico

Se usó la estadística descriptiva para evaluar la afinidad de la unión entre los fármacos seleccionados y el dominio catalítico de PI-3K. Los valores se expresaron en un gráfico de barras para visualizar la distribución de las energías de unión. Además, se calculó la frecuencia de interacciones específicas en los fármacos seleccionados como candidatos al reposicionamiento farmacológico.

Consideraciones éticas

Este estudio fue aprobado por el Comité Institucional de Ética en Investigación de la Universidad de Piura (Nro: PREMEO820219). Al ser un estudio con abordaje *in silico*, no se requirió la intervención de seres humanos o el uso de muestras biológicas. Se desarrolló en los laboratorios de investigación de Cultivo Celular, Inmunología y Biología Celular y Análisis de Proteína y Bioinformática de la Universidad de Piura.

RESULTADOS

En base a las interacciones y la literatura, en este estudio se propone nueve modelos de farmacóforos (Tabla 1), cada uno con cinco características, donde se reflejan las posiciones más importantes usadas por los inhibidores existentes y las regiones de unión del ATP en las quinasas ⁽¹²⁾. Los farmacóforos 1, 2 y 3 contienen posiciones que se ubican en la región de adenina y la región enterrada. Los farmacóforos 4 y 5 agregan posiciones en la región accesible al solvente, los 6 y 7 agregan posiciones en la región del azúcar, mientras que 8 y 9 lo hacen en la región de unión al fosfato.

Tabla 1. Modelos de farmacóforos y sus distintas características

Modelo	Características
Farmacóforo 1	HBA1, Hyd1, HBA2, Hyd2, HBA3
Farmacóforo 2	HBA1, Hyd1, HBA4, Hyd2, HBA3
Farmacóforo 3	HBA1, Hyd1, Hyd3, HBA5, HBA6
Farmacóforo 4	HBA1, Hyd1, HBD01, Hyd2, HBA3
Farmacóforo 5	HBA1, Hyd1, Hyd2, HBA3, HBA7
Farmacóforo 6	HBA1, Hyd1, Hyd2, HBA3, HBD02
Farmacóforo 7	HBA1, Hyd1, Hyd2, HBA3, HBA8
Farmacóforo 8	HBA1, Hyd1, Hyd2, HBA3, HBA9
Farmacóforo 9	HBA1, Hyd1, Hyd2, HBA3, HBA10

HBD0: Enlace de hidrógeno donador; HBA: enlace de hidrógeno aceptor; Hyd: hidrofóbico; Aro: aromático.

Los modelos de farmacóforos generados fueron usados para buscar fármacos que contengan estas características en la biblioteca de medicamentos aprobados por la FDA, disponible en Pharmit. Inicialmente, se obtuvo un total de 33 fármacos en los nueve modelos propuestos (Tabla 2).

Luego de identificar aquellos que se encontraban repetidos en más de un modelo de farmacóforo, se procedió a elegir solo uno, según su energía de unión, y eliminar el resto. Al finalizar este proceso, se mantuvieron 22 fármacos.

Tabla 2. Fármacos obtenidos en cada modelo

Modelo	Fármacos aprobados por la FDA
1	Sulfadoxina, cefonicida, apalutamida
2	Entecavir
3	Cefamandol, dexametasona, sulfametazina, terazosina, trazodona
4	Azilsartán, larotrectinib, regadenosón, sildenafil
5	Ceftazidima, entecavir, omeprazol, regadenosón, ritodrina, vardenafilo
6	Nelarabina, riboflavina
7	Azelastina, bosentán, entecavir, fostamatinib, riboflavina, tenofovir
8	Fostamatinib, pralatrexato
9	Entecavir, nizatidina, pralatrexato, tedizolid

Para cada fármaco obtenido se midió la energía de unión (kcal/mol) del complejo formado por PI3-K y los fármacos aprobados por la FDA. Lo mismo se hizo para los inhibidores existentes de PI-3K (inavolisib, taselesib, CH5132799, alpelisib, ZSTK474) con PI-3K (Figura 1A).

Dentro de los fármacos aprobados por la FDA, pralatrexato (57,2 kcal/mol) y entecavir (56,1 kcal/mol) fueron los que tenían mayor energía de unión a PI-3K, incluso llegando a superar la mayoría de los inhibidores de PI-3K (alpelisib: 53,28 kcal/mol, inavolisib: 53,13 kcal/mol, CH5132799: 43,31 kcal/mol, ZSTK474: 47,02 kcal/mol). Dentro de los inhibidores existentes de PI3K α , taselesib

(59,75 kcal/mol) fue el que tenía el mayor valor de energía de unión y, además, era superior a todos los otros fármacos.

Se restaron los valores de energía de unión individuales de los fármacos aprobados por la FDA, que se obtuvieron en el cribado virtual con el promedio de los inhibidores específicos ya existentes para PI-3K. Con esto se pudo identificar diez posibles candidatos que tenían una energía de unión dentro del rango de -10 y +10 (Figura 1B). En la Tabla 3, se describen las características de los enlaces que estos diez fármacos candidatos al reposicionamiento tienen con el sitio activo de PI3K α .

Identificación de inhibidores de PI3K α mediante diseño de farmacóforos y reposicionamiento farmacológico†

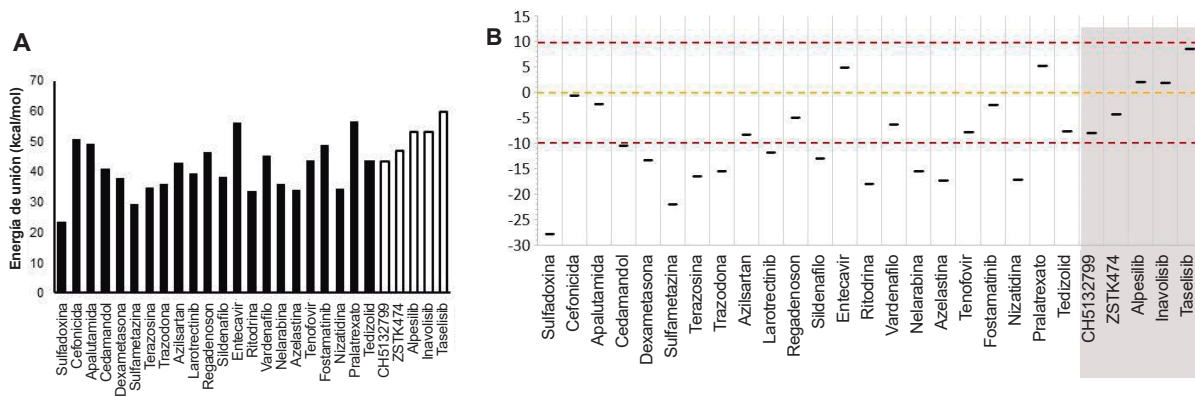


Figura 1. Energía de unión entre PI3K y fármaco. A. Las barras negras representan la energía de unión de PI-3K con los fármacos aprobados por la FDA para otros usos, mientras que las barras blancas representan la energía de unión de PI-3K con sus inhibidores específicos desarrollados. B. Diagrama de dispersión de la energía de activación entre PI3K α y fármacos. Se consideró como aceptable la energía de unión de los fármacos que se encontraban entre el rango de -10 a +10 (líneas rojas). En sombreado gris, se aprecia los fármacos inhibidores específicos de PI3K α .

Tabla 3. Características de los fármacos candidatos al reposicionamiento

Fármacos	Energía de unión (kcal/mol)	Puentes de hidrógeno	Interacciones hidrofóbicas	<i>Pi-stacking</i>	Puentes de sal
Fostamatinib	48,7	Arg770 His855 Gln859 Asp933	-	-	Arg770
Entecavir	56,1	Ser773 Ser774 Val851 Gln859 Ser919 Asp933	Ile800 Ile932	-	-
Pralatrexato	56,4	Ser774 Lys802 Asn853 Ser854 Gln859	Ile800 Tyr836 Val850 Val851 Ile932	-	-
Tedizolid	43,6	Asp810 Gln859 Asp933	Ile800 Ile848 Ile932	Trp780	Asp810 Asp933
Tenofovir	43,5	Asp810 Gln859 Asp933	Trp780 Ile800 Val850 Gln859	Trp780	-
Vardenafilo	45	Arg770 Val851 Ser854 Gln859	Trp780 Ile800 Ile932 -	Trp780	-

Fármacos	Energía de unión (kcal/mol)	Puentes de hidrógeno	Interacciones hidrofóbicas	<i>Pi-stacking</i>	Puentes de sal
Regadenosón	46,2	Val851 Ser854 Gln859 Asp933		-	
Apalutamida	49	Val851 Ser854 His855 Gln859 Asp933	Trp780 Ile848 Val851 Phe930 Ile932	-	-
Cefonicida	50,6	Val851 Asn853 Ser854 His855 Gln859	Ile800 Tyr836 Ile848 Ile932	-	-
Azilsartán	42,9	Arg770 Gln859 Asp933	Ile800 Lys802 Tyr836 Ile848 Val851 Thr856 Ile932	-	Lys802

DISCUSIÓN

De los diez fármacos antes mencionados, se han seleccionado tres en particular: fostamatinib, pralatrexato y entecavir, para su posible reposicionamiento farmacológico, tomando como base sus interacciones *in silico* y estudios de sus posibles usos en cáncer.

El fostamatinib es un inhibidor de la tirosina quinasa esplénica (spleen tyrosine kinase, Syk), que ha sido aprobado para el tratamiento de la trombocitopenia autoinmune crónica en los pacientes en los que ha fallado la terapia convencional ⁽¹³⁾, aunque su uso viene siendo evaluado también en otras patologías ⁽¹⁴⁾. Estudios previos han demostrado que la proteína Syk es un mediador molecular clave en la regulación de la plasticidad epitelial-mesenquimal y en la transición epitelial-mesenquimal (EMT, por sus siglas en inglés). Este proceso es fundamental para el desarrollo de la metástasis a partir de un tumor primario ⁽¹⁵⁾. Si bien inicialmente se identificó que los tejidos de pacientes con cáncer presentaban menor expresión de Syk, lo que llevaría a ubicarlo como un posible supresor de tumores ⁽¹⁶⁾, estudios experimentales han encontrado que tendría una participación directa en la EMT y sugieren que su inhibición —usando fostamatinib, por ejemplo—

podría disminuir la probabilidad de metástasis ^(15,17). A nivel de ensayos clínicos, los resultados de fostamatinib aún no son concluyentes, ya que muestran una tolerancia variable y una baja efectividad en algunos tumores sólidos ^(14,18). La interacción del fostamatinib con quinasas distintas a Syk, como Flt3, JAK, c-Kit, Lck o RET, ya se ha identificado ⁽¹⁴⁾, aunque su uso como un posible inhibidor de PI-3K aún no se ha evaluado. En nuestro hallazgo *in silico*, la interacción del fostamatinib con PI-3K se caracteriza por formar puentes de hidrógeno con His855, Gln859, Asp933 y Arg770, tal como se aprecia en la Figura 2A. Estas interacciones también están presentes en los inhibidores ya existentes de PI3K α y el ATP. Los enlaces con los residuos de His855 y Gln859 podrían ayudar a tener una mayor especificidad respecto a PI3K α ⁽¹⁹⁾. Se ha visto que la carboxiamida de alpelisib, taselisib e inavolisib también se une a la Gln859 ⁽²⁾, lo que podría sugerir que este residuo cumple un rol importante en diferenciar la afinidad entre PI3K α y las otras isoformas ⁽¹⁹⁾. El Asp933 pertenece al motivo DFG (aspartato, fenilalanina y glicina), que está conservado en todas las proteínas quinasas y desempeña una función crítica en la catálisis. Este motivo se une al ion Mg²⁺ para orientar al fosfato y del ATP durante su transferencia ⁽²⁰⁾. Cabe resaltar que este residuo también es un blanco frecuente de unión para los inhibidores de PI3K α anteriormente mencionados ⁽²⁾.

Identificación de inhibidores de PI3K α mediante diseño de farmacóforos y reposicionamiento farmacológico†

Por otro lado, el pralatrexato es un fármaco que se usa para tratar formas avanzadas o recurrentes de linfoma de células T periféricas. Se trata de un antimetabolito inhibidor análogo del ácido fólico, por lo que impide la replicación del ADN y el ciclo celular. Algunos estudios preclínicos han mostrado un efecto alentador del pralatrexato en el neuroblastoma de alto riesgo (incluso superior al metotrexato) ⁽²¹⁾, y superior a otros antimetabolitos en el cáncer de pulmón de células no pequeñas (CPCNP) recurrente o refractario y algunos otros tipos de linfomas ⁽²²⁾. Inclusive, se ha sugerido que se considere al pralatrexato como un fármaco para reposicionamiento en el tratamiento de la COVID-19, dado su efecto viral añadido a su rol antineoplásico ⁽²³⁾. No se ha encontrado literatura que describa el efecto del pralatrexato en la quinasa PI3K α ni en cánceres con alto índice de mutación de esta enzima, por lo que nuestro hallazgo podría aportar nuevas luces en su uso futuro. En la Figura 2B se muestra la interacción de pralatrexato y PI3K α , donde se destaca, además de la Gln859, su enlace con la Lys802 catalítica y la Ser854. Se ha descrito que la Lys802 participa en la reacción de transferencia del fosfato en p110 α ^(20,24,25) y es blanco de interacción en el inhibidor específico de PI3K α , CH5132799 ⁽²⁾. Por otra parte, se ha reportado que existen enlaces entre la Ser854 y alpelisib, taselisib e inavolisib ⁽²⁾, lo que sugiere que también es un importante residuo en la función catalítica de PI3K α .

El entecavir es un antiviral de tipo nucleosídico utilizado desde hace casi dos décadas para el tratamiento de la infección crónica por el virus de la hepatitis B, cuyo efecto biológico es la inhibición de la replicación viral ⁽²⁶⁾. Al ser un análogo de la guanina, su papel en la terapia contra el cáncer ha sido evaluado en aproximaciones de reposicionamiento farmacológico *in silico*, en donde se sugiere su posible rol como quimioterápico en cáncer de mama, ovario y próstata, y en tejidos con alta actividad de PARP-1 ^(27,28). Sin embargo, no se evalúa su posible rol inhibidor de quinasa clave en la progresión del cáncer como PI3K α , cuya interacción es graficada en la Figura 2C. De igual forma que con el fostamatinib, presenta la unión con la Gln859 y el Asp933, lo que le conferiría las características antes descritas. Además, se indica que interactúa con la Val851, que se encuentra en la región bisagra de la quinasa. Este mismo residuo es blanco en otros inhibidores conocidos para PI3K α , como alpelisib, taselisib, inavolisib y CH5132799 ⁽²⁾.

Finalmente, cabe resaltar que otros fármacos con buenos resultados *in silico* contra PI3K ya están siendo evaluados en la terapia contra el cáncer. Un ejemplo es el tenofovir, un medicamento utilizado contra la infección por el VIH, que ha demostrado efectos en algunos tipos de cáncer recurrente o avanzado, como el carcinoma hepatocelular ^(29,30).

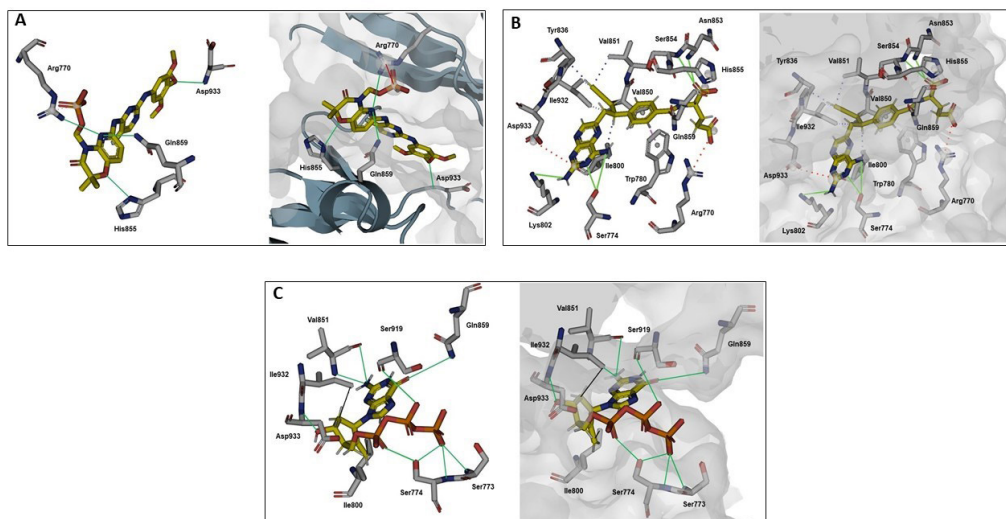


Figura 2. Interacción fármaco-proteína. A. Interacción entre fostamatinib y PI3K. B. Interacción entre pralatrexato y PI3K. C. Interacción entre entecavir y PI3K. Todas las interacciones se muestran en formato *stick* (izquierda del recuadro) y formato *surface* (derecha del recuadro). Los puentes de hidrógeno están representados con líneas de color verde.

En conclusión, este estudio identificó diez fármacos con probabilidad de reposicionamiento farmacológico en el tratamiento del cáncer mediante su interacción con PI3K α . De estos, fostamatinib, pralatrexato y entecavir fueron seleccionados debido a sus interacciones *in silico* y estudios de sus posibles usos en cáncer. Estos fármacos están en fase de pruebas experimentales o ensayos clínicos, donde su blanco de interacción son las proteínas quinasas; por lo tanto, la posibilidad de que interactúen con PI3K α es viable. Además, este proyecto generó nueve farmacóforos que pueden usarse en diferentes bases de datos especializadas para la búsqueda de nuevas moléculas y/o fármacos con capacidad potencial para el reposicionamiento farmacológico. Por consiguiente, se sugiere continuar con la exploración *in silico* e *in vitro*, enfocándose en evaluar el rol de estos fármacos en la inhibición de PI3K α y en los tipos de neoplasias en los que la actividad de esta quinasa o sus mutaciones jueguen un papel clave.

Agradecimientos: A la Dra. Silvia Suárez Cunza, del Instituto de Bioquímica y Nutrición “Alberto Guzmán Barrón” de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, por su revisión y observaciones al presente artículo.

Contribuciones de los autores: PWC, SIV y JFC fueron responsables de la conceptualización del estudio; PWC, DRL y JFC efectuaron la curación de los datos, y PWC, DRL, RZD y JFC se hicieron cargo del uso de los softwares para el estudio. Además, PWC, DRL, RZD, BMD y JFC realizaron el análisis formal del estudio, así como de la investigación, y SIV y RZD adquirieron el financiamiento de Concytec-Prociencia. La recopilación de datos fue llevada a cabo por PWC, DRL, RZD y JFC. Asimismo, SIV, RZD y JFC propusieron el método de la investigación, y PWC y DRL redactaron el borrador original. Todos los autores realizaron la redacción, revisión y edición del artículo.

Fuentes de financiamiento: La investigación fue financiada por el Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica (Concytec) a través del programa Prociencia, por el proyecto “Determinación *in vitro* de nuevas dianas terapéuticas en modelos celulares de cáncer de pulmón de células no pequeñas positivo para la mutación del gen linfoma anaplásico quinasa (ALK) resistente a inhibidores selectivos de la proteína ALK”, con número de contrato: 375-2019-FONDECYT y financiado por la Universidad de Piura por el proyecto código PI2106, “Patrón metabólico y expresión de la vía PI3K/AKT en líneas celulares de cáncer de pulmón de células no pequeñas ALK+ resistentes a inhibidores de tirosina quinasa”.

Conflicto de intereses: Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Astudillo-de la Vega H, Ruiz-García E, Martínez-Cedillo J, Ochoa-Carrillo FJ. El papel de la quimiorresistencia en los tumores sólidos. *Gac Mex Oncol* [Internet]. 2010;9(3):117-26.
2. Vanhaesebroeck B, Perry MWD, Brown JR, André F, Okkenhaug K. PI3K inhibitors are finally coming of age. *Nat Rev Drug Discov* [Internet]. 2021;20(10):741-69.
3. Zhang Y, Kwok-Shing Ng P, Kucherlapati M, Chen F, Liu Y, Tsang YH, et al. A Pan-Cancer Proteogenomic Atlas of PI3K/AKT/mTOR Pathway Alterations. *Cancer Cell* [Internet]. 2017;31(6):820-32.
4. Zhang M, Jang H, Nussinov R. PI3K inhibitors: review and new strategies. *Chem Sci* [Internet]. 2020;11(23):5855-65.
5. Hennessy BT, Smith DL, Ram PT, Lu Y, Mills GB. Exploiting the PI3K/AKT pathway for cancer drug discovery. *Nat Rev Drug Discov* [Internet]. 2005;4(12):988-1004.
6. Mishra R, Patel H, Alanazi S, Kilroy MK, Garrett JT. PI3K inhibitors in cancer: Clinical implications and adverse effects. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2021;22(7):3464.
7. Arafeh R, Samuels Y. PIK3CA in cancer: The past 30 years. *Semin Cancer Biol* [Internet]. 2019;59:36-49.
8. Clarke PA, Workman P. Phosphatidylinositol-3-kinase inhibitors: addressing questions of isoform selectivity and pharmacodynamic/predictive biomarkers in early clinical trials. *J Clin Oncol* [Internet]. 2012;30(3):331-3.
9. Wang Y, Kuramitsu Y, Baron B, Kitagawa T, Tokuda K, Akada J, et al. PI3K inhibitor LY294002, as opposed to wortmannin, enhances AKT phosphorylation in gemcitabine-resistant pancreatic cancer cells. *Int J Oncol* [Internet]. 2017;50(2):606-12.
10. Gharbi SI, Zvelebil MJ, Shuttleworth SJ, Hancox T, Saghir N, Timms JF, et al. Exploring the specificity of the PI3K family inhibitor LY294002. *Biochem J* [Internet]. 2007;404(1):15-21.
11. Pushpakom S, Iorio F, Eyers PA, Escott KJ, Hopper S, Wells A, et al. Drug repurposing: progress, challenges and recommendations. *Nat Rev Drug Discov* [Internet]. 2019;18(1):41-58.
12. Vulpetti A, Bosotti R. Sequence and structural analysis of kinase ATP pocket residues. *Il Farm* [Internet]. 2004;59(10):759-65.
13. Bussell J, Arnold DM, Grossbard E, Mayer J, Treliński J, Homenda W, et al. Fostamatinib for the treatment of adult persistent and chronic immune thrombocytopenia: results of two phase 3, randomized, placebo-controlled trials. *Am J Hematol* [Internet]. 2018;93(7):921-30.
14. Park SR, Speranza G, Piekarz R, Wright JJ, Kinders RJ, Wang L, et al. A multi-histology trial of fostamatinib in patients with advanced colorectal, non-small cell lung, head and neck, thyroid, and renal cell carcinomas, and pheochromocytomas. *Cancer Chemother Pharmacol* [Internet]. 2013;71(4):981-90.
15. Shinde A, Hardy SD, Kim D, Akhand SS, Jolly MK, Wang WH, et al. Spleen tyrosine kinase-mediated autophagy is required for epithelial-mesenchymal plasticity and metastasis in breast cancer. *Cancer Res* [Internet]. 2019;79(8):1831-43.
16. Sung YM, Xu X, Sun J, Mueller D, Sentissi K, Johnson P, et al. Tumor suppressor function of Syk in human MCF10A *in vitro* and normal mouse mammary epithelium *in vivo*. *PLOS ONE* [Internet]. 2009;4(10):e7445.
17. Braselmann S, Taylor V, Zhao H, Wang S, Sylvain C, Baluom M, et al. R406, an orally available spleen tyrosine kinase inhibitor blocks fc receptor signaling and reduces immune complex-mediated inflammation. *J Pharmacol Exp Ther* [Internet]. 2006;319(3):998-1008.
18. Flinn IW, Bartlett NL, Blum KA, Ardeshta KM, LaCasce AS, Flowers CR, et al. A phase II trial to evaluate the efficacy of fostamatinib in patients with relapsed or refractory diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL). *Eur J Cancer* [Internet]. 2016;54:11-7.
19. Heffron TP, Heald RA, Ndubaku C, Wei B, Augustin M, Do S, et al. The

- rational design of selective benzoxazepin inhibitors of the α -isoform of phosphoinositide 3-Kinase culminating in the identification of (S)-2-((2-(1-isopropyl-1H-1,2,4-triazol-5-yl)-5,6-dihydrobenzo[f]imidazo[1,2-d][1,4]oxazepin-9-yl)oxy)propanamide (GDC-0326). *J Med Chem* [Internet]. 2016;59(3):985-1002.
20. Maheshwari S, Miller MS, O'Meally R, Cole RN, Amzel LM, Gabelli SB. Kinetic and structural analyses reveal residues in phosphoinositide 3-kinase α that are critical for catalysis and substrate recognition. *J Biol Chem* [Internet]. 2017;292(33):13541-50.
 21. Clark RA, Lee S, Qiao J, Chung DH. Preclinical evaluation of the anti-tumor activity of pralatrexate in high-risk neuroblastoma cells. *Oncotarget* [Internet]. 2020;11(32):3069-77.
 22. Marchi E, O'Connor OA. Safety and efficacy of pralatrexate in the treatment of patients with relapsed or refractory peripheral T-cell lymphoma. *Ther Adv Hematol* [Internet]. 2012;3(4):227-35.
 23. Bae JY, Lee GE, Park H, Cho J, Kim J, Lee J, et al. Antiviral efficacy of pralatrexate against SARS-CoV-2. *Biomol Ther (Seoul)* [Internet]. 2021;29(3):268-72.
 24. Walker EH, Perisic O, Ried C, Stephens L, Williams RL. Structural insights into phosphoinositide 3-kinase catalysis and signalling. *Nature* [Internet]. 1999;402(6759):313-20.
 25. Wymann MP, Bulgarelli-Leva G, Zvelebil MJ, Pirola L, Vanhaesebroeck B, Waterfield MD, et al. Wortmannin inactivates phosphoinositide 3-Kinase by covalent modification of Lys-802, a residue involved in the phosphate transfer reaction. *Mol Cell Biol* [Internet]. 1996;16(4):1722-33.
 26. Robinson DM, Scott LJ, Plosker GL. Entecavir: a review of its use in chronic hepatitis B. *Drugs*. 2006;66(12):1605-22.
 27. Sherin DR, Manojkumar TK. Exploring the selectivity of guanine scaffold in anticancer drug development by computational repurposing approach. *Sci Rep* [Internet]. 2021;11(1):16251.
 28. Lourenço T, Vale N. Pharmacological efficacy of repurposing drugs in the treatment of prostate cancer. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2023;24(4):4154.
 29. Zhang M, Wang D, Liu H, Li H. Tenofovir decrease hepatocellular carcinoma recurrence in chronic hepatitis B patients after liver resection. *Infect Agent Cancer* [Internet]. 2018;13:19.
 30. Brüning A, Burger P, Ginkelmaier A, Mylonas I. The HIV reverse transcriptase inhibitor tenofovir induces cell cycle arrest in human cancer cells. *Invest New Drugs* [Internet]. 2012;30(4):1389-95.

Correspondencia:

Juan Enrique Faya Castillo

Dirección: C. Mártir José Olaya 162, Miraflores 15074


Teléfono: (01) 213 9600 anexo 2239

Correo electrónico: juan.faya@udep.edu.pe /
paolo.wong@udep.edu.pe

Recibido: 2 de noviembre de 2023


Evaluado: 11 de enero de 2024

Aprobado: 16 de febrero de 2024


© La revista. Publicado por la Universidad de San Martín de Porres, Perú.
 Licencia de Creative Commons. Artículo en acceso abierto bajo términos de Licencia Creative Commons. Atribución 4.0 Internacional. (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)

ORCID iD


Paolo Wong Chero

 <https://orcid.org/0000-0001-7635-0347>


Daniel Ramírez Lupuche

 <https://orcid.org/0009-0003-9685-0375>


Richard Zapata Dongo

 <https://orcid.org/0000-0001-7634-1029>


Brenda Moy Díaz

 <https://orcid.org/0009-0008-3055-975X>

Stefany Infante Varillas

 <https://orcid.org/0000-0002-3067-233X>

Juan Faya Castillo

 <https://orcid.org/0000-0002-3408-7971>