



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**POSGRADO EN CIENCIA E INGENIERÍA DE MATERIALES**  
**CENTRO DE FÍSICA APLICADA Y TECNOLOGÍA AVANZADA**

**Diseño de quimiosensores por técnicas de acoplamiento molecular  
(Docking) para el antígeno carcinoembrionario (CEA).**

**T E S I S**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

**MAESTRO EN CIENCIA E INGENIERÍA DE MATERIALES**

PRESENTA

**ING. JORGE ADRIÁN MORENO MELENDRES**

TUTOR PRINCIPAL

**DR. ÁNGEL RAMÓN HERNÁNDEZ MARTÍNEZ**

CENTRO DE FÍSICA APLICADA Y TECNOLOGÍA AVANZADA U.N.A.M.

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR:

**DR. JOAQUÍN BARROSO FLORES**

INSTITUTO DE QUÍMICA UNAM

**DR. IVAN SANTAMARIA HOLEK**

ENES-CAMPUS JURQUILLA

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX., MAYO 2022



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).



El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



## UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

*Maestría en Ciencia e Ingeniería de Materiales.*  
*Campo del Conocimiento: Materiales compuestos.*  
*Semestre de inicio en la maestría: 2020-2*  
*Fecha de finalización de la maestría: 2022-2*  
*Becario/CVU: 1042929*  
*Nombre: Jorge Adrián Moreno Melendres*  
*No. de cuenta: 52001937-3*

### Comité Tutor

	<b>Nombre.</b>	<b>Firma de Vo.Bo.</b>
Miembro del comité tutorial.	Dr. Joaquín Barroso Flores	 Santamaría K
Miembro del comité tutorial.	Dr. Iván Santamaría Holek	
Tutor.	Dr. Angel Ramón Hernández Martínez.	

**Proyecto.** "Diseño de quimiosensores por técnicas de acoplamiento molecular (Docking) para el antígeno carcinoembrionario (ACE)".

## Índice

Índice de Figuras .....	5
Índice Tablas .....	6
Dedicatoria.....	7
Agradecimientos .....	8
Resumen .....	9
1. Introducción.....	10
2. Marco Teórico .....	11
2.1 Antecedentes.....	12
2.1.1 Antígeno carcinoembrionario (CEA).....	12
2.1.2 Biosensores .....	13
2.2 Justificación de la investigación.....	15
2.2 Fundamentos teóricos. ....	16
2.3.1 Química Supramolecular en Ciencia e Ingeniería de Materiales.....	16
2.3.2 Interacciones No Covalentes .....	16
2.3.3 Efecto hidrofóbico .....	21
2.3.4 Solvatación.....	22
2.3.5 Reconocimiento Molecular .....	22
2.3.6 Cromóforos y auxocromos .....	24
2.3.7 Quimiosensores. ....	25
2.3.8 Química computacional.....	29
2.4 Problema de Investigación. ....	33
2.5 Hipótesis.....	34
2.6 Objetivo General.....	35
2.7 Objetivos Específicos .....	35
3 Desarrollo.....	36
3.1. Metodología.....	36
3.1.1 Estimación de las interacciones de ligandos endógenos con el CEA realizando un acoplamiento molecular.....	37
3.1.2 Preparación del objetivo molecular y de los ligandos.....	38
3.1.3 Análisis de la naturaleza de las interacciones de los ligandos endógenos con el CEA. ....	39
3.1.4 Definir un farmacóforo base.....	40
4 Resultados. ....	41
4.1. Optimización.....	41
4.2 Interacción de los ligandos endógenos con el CEA.....	43
4.3 Generación del farmacólogo.....	48
4.4 Generación del banco de candidatos a quimiosensor. ....	49
4.5 Energías obtenidas entre los ligandos propuestos y la proteína. ....	53
4.6 Interacciones entre las moléculas promisorias y el CEA. ....	54
4.7 Espectros Uv-Vis predictivos. ....	56

5 Conclusiones.....	58
Bibliografía.....	61

## Índice de Figuras

Figura 1. Distribución de la nube electrónica del benceno.	17
Figura 2. Diagrama de Perrin-Jablonski para visualizar los procesos de absorción, fluorescencia y fosforescencia en quimiosensores; idealizadas como moléculas aisladas en fase vapor a muy baja presión o incluso en disoluciones diluidas.	25
Figura 3. Esquemmatización de transiciones entre orbitales de enlace y antienlace en la región UV-Visible.	28
Figura 4. Estructuras cristalinas del CEA con ligandos endógenos, (obtenidos de rcsb.org); (a) estructura 1L6Z; (b) estructura 5VST; (c) estructura 2VER, (d) estructura 4WHD.	37
Figura 5. Moléculas obtenidas a partir de las estructuras cristalinas de códigos de registro 1L6Z; 5VST; 2VER y 4WHD CEA: (a) ligando L1; (b) ligando L2; (c) ligando 2VER, (d) ligando 4WHD, (e) ligando 5VST, (f) CEA.	38
Figura 6. Estructura en dos dimensiones de (a) antraceno y (b) xanteno.	40
Figura 7. a) Antraceno con decoraciones químicas características en la interacción ligando-CEA. b) Xanteno con decoraciones químicas características en la interacción ligando-CEA.	47
Figura 8. a) Estructura base del antraceno y b) del xanteno para la generación del banco de candidatos.	48
Figura 9. Interacción proteína-ligando; a) entre el ligando A26 y el CEA; b) entre el ligando A18 y el CEA; c) entre el ligando A19 y el CEA; d) Valores teóricos de Energía de unión.	54

## Índice Tablas

Tabla 1. Ligandos endógenos optimizados.....	42
Tabla 2. Sitio de unión e identificación de grupos funcionales de los ligandos endógenos y el CEA.....	44
Tabla 3. Interacción entre los ligandos endógenos y el CEA.....	46
Tabla 4. Biblioteca generada de moléculas candidatos a quimiosensor.....	49
Tabla 5. Energías de unión más bajas de los ligandos propuestos. ....	54

## **Dedicatoria**

En primer lugar, le dedico este trabajo a mi familia, mi madre y su esposo por ser pieza fundamental para mi formación académica.

A mi padre, por siempre motivarme a cumplir lo que yo me propusiera, y a pesar de que ya no está presente siempre será fuente de motivación.

A mis hermanos por estar conmigo siempre y ayudarme cuando fue necesario.

A mis compañeros de maestría los cuales pasamos momentos muy agradables.

A Ricardo Padilla por ser un gran amigo y compartir su conocimiento conmigo.

A mi asesor Dr. Angel por su orientación y consejos tanto en mi carrera profesional, así como en mi vida personal.

A mi hermosa novia la cual siempre me motivó a seguir adelante e impulsarme a cumplir todas mis metas.

A todas las personas que contribuyeron de diferente manera para poder lograr mis objetivos.



## **Agradecimientos**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada para la realización de mis estudios de maestría, bajo el número de CVU 1042929; durante el periodo de febrero/2020 a enero/2022.

A la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM); al Centro de Física y Tecnología Avanzada (CFATA-UNAM), Posgrado de Ciencias e Ingeniería de Materiales y al Laboratorio Nacional de Visualización Científica Avanzada (LAVIS- UNAM) por facilitar el desarrollar mi estancia de investigación a distancia y el desarrollo del trabajo de investigación reportado en este documento.

La realización de este trabajo contó con el apoyo técnico de Luis Aguilar, Alejandro León, Carlos Flores y Jair García del Laboratorio Nacional de Visualización Científica Avanzada de la UNAM (LAVIS). Así como con la asesoría académica del Dr. Ángel Ramón Hernández Martínez, Investigador adscrito al CFATA, a quién le agradezco su tiempo y disposición para que este proyecto se desarrollara, por compartir sus conocimientos y permitirme adquirir nuevos conocimientos, así como dejarme ser parte de su equipo de asesorados.

Al Dr. Joaquin Barroso Flores, adscrito al Instituto de Química de la UNAM, y al Dr. Ivan Santamaria Holek, adscrito a la unidad multidisciplinaria de docencia e investigación (UMDI), Facultad de Ciencias de la UNAM, por conformar mi comité tutor junto a mi asesor principal el Dr. Ángel Ramón Hernández Martínez, por su orientación tan enriquecedora y disposición para el desarrollo de este proyecto.

Al estudiante de doctorado en el posgrado de ciencia e ingeniería de materiales M.C. Ricardo Padilla y al investigador posdoctorante Dr. Andrés Reyes Chaparro por compartir sus conocimientos que sin duda fueron de mucha utilidad para el desarrollo de este proyecto de investigación.

## Resumen

Los quimiosensores son estructuras químicas con capacidad de reconocer sustancias químicas específicas y reportar su presencia a través de un cambio detectable o una señal. Los quimiosensores se pueden usar en la detección de marcadores o estructuras químicas relacionadas con diversas enfermedades. El antígeno carcinoembrionario (CEA) es una glicoproteína que se usa como marcador tumoral para el diagnóstico y seguimiento de cáncer de mama, colón, entre otros. En este proyecto se utilizaron técnicas de acoplamiento molecular (Docking) para estudiar la interacción entre el CEA y sus ligandos endógenos, usando la información disponible en la base de datos de estructuras tridimensionales de proteínas y ácidos nucleicos (Protein Data Bank). Posteriormente, utilizando la información obtenida se propusieron dos estructuras base de farmacóforos para quimiosensores ópticos, usando como estructuras moleculares base al xanteno y antraceno debido a sus propiedades ópticas ampliamente reportadas en la literatura. A partir de los farmacóforos se generaron 64 posibles quimiosensores utilizando el programa Smilib. Adicionalmente, usando el programa Autodock4 se realizó el acoplamiento molecular para determinar la energía de afinidad de cada posible quimiosensor con la proteína. De esta manera se clasificaron los quimiosensores obtenidos de acuerdo con desempeño, de mayor a menor. Los cuatro posibles quimiosensores con mayor energía de afinidad fueron seleccionados para proponer un diseño.

## 1. Introducción.

El término *cáncer* engloba a un conjunto de enfermedades que tienen en común un crecimiento incontrolable de células anormales, en cualquier órgano o tejido del cuerpo y que pueden invadir partes adyacentes del cuerpo o migrar a otros órganos. A este proceso se le conoce como metástasis. De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS; WHO, por sus siglas en inglés), el cáncer es la segunda causa de muerte a nivel mundial [1]. Es por esto que el cáncer se considera un gran problema de salud pública, ya que ocasiona cerca de 10 millones de defunciones por año, según datos de la Agencia Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer (IARC, por sus siglas en inglés), institución perteneciente a la OMS [2]. Entre los diferentes tipos de cáncer, los más comunes son; el cáncer de mama, pulmón y colorrectal, siendo los últimos dos, los causantes del mayor número de muertes (datos de la OMS).

En 2017, en medio del día mundial contra el cáncer (4 de febrero), la OMS, en voz de Etienne Krug, director del departamento de enfermedades no transmisibles, discapacidad, violencia y prevención de lesiones; aseguró que *“el diagnóstico del cáncer en una fase tardía y la imposibilidad de recibir tratamiento condenan a muchas personas a sufrimientos innecesarios y a una muerte precoz”* [3]. Por lo que la adopción de medidas orientadas al diagnóstico temprano, son de gran importancia para garantizar un tratamiento seguro y eficaz. Lo que aumenta la probabilidad de éxito del tratamiento y disminuye los costos asociados al mismo.

La presencia de cáncer, así como ciertas afecciones benignas (pre malignas) relacionadas con el cáncer, generan alteraciones bioquímicas, por lo que determinadas sustancias químicas producidas por las células tumorales (cancerosas) o por células o tejidos circundantes, sirven como *marcadores tumorales*, también llamados biomarcadores. La mayoría de estos biomarcadores son producidos tanto por las células normales como por las células cancerosas. Sin embargo, se producen en concentraciones mayores como respuesta a enfermedades cancerosas, por lo que se pueden usar para identificar la presencia de células cancerosas, incluso en etapas tempranas [4]. Los biomarcadores ofrecen, además información sobre el cáncer, como el

grado de malignidad, si es posible usar terapia dirigida o si el cáncer responde al tratamiento. Se pueden clasificar en biomarcadores circulantes y biomarcadores en tejidos tumorales, con usos diferentes en el tratamiento del cáncer [5]. Los biomarcadores en tejido se encuentran en las células cancerígenas y se obtienen por medio de una biopsia; se usan para diagnosticar, clasificar el cáncer, calcular el pronóstico, y elegir el tratamiento adecuado. Mientras que los biomarcadores circulantes, se encuentran en la sangre, orina, materia fecal u otros líquidos del cuerpo (como la saliva) y se usan para calcular el pronóstico, evaluar la respuesta de un paciente al tratamiento, determinar si hay resistencia al tratamiento y para el diagnóstico o detección del cáncer [6].

Dentro de los biomarcadores circulantes se encuentra el antígeno carcinoembrionario (CEA, por sus siglas en inglés), el cual es un antígeno que se encuentra presente en la etapa fetal, pero disminuye su concentración después del nacimiento, llegando incluso a desaparecer en adultos. Si embargo, con ciertas neoplasias (tipos de cáncer), particularmente tumores epiteliales, se produce nuevamente este antígeno en concentraciones altas. Debido a que el CEA, incrementa su concentración con diversos tipos de cáncer, se considera un biomarcador no específico, usado para el diagnóstico de más de un tipo de cáncer.

En este sentido, el desarrollo de nuevos materiales que reporten la presencia del CEA en sangre, orina u otros líquidos corporales, puede abrir nuevas opciones para el desarrollo de herramientas de diagnóstico y seguimiento de diferentes tipos de enfermedades cancerígenas; lo cual sería de gran impacto en la detección temprana y en el seguimiento terapéutico de la enfermedad.

El trabajo que aquí se presenta, está enfocado al diseño de nuevos materiales con propiedades adecuadas para actuar como sensores moleculares en la detección del CEA. Para lo cual se implementó una metodología de desarrollo acelerado de sensores moleculares, basada en herramientas de interacción moleculares o herramientas docking, usadas con gran éxito en el diseño y desarrollo de nuevos fármacos.

## **2. Marco Teórico**

### **2.1 Antecedentes.**

#### **2.1.1 Antígeno carcinoembrionario (CEA)**

El antígeno carcinoembrionario (CEA) es una proteína que ayuda a las células a adherirse entre ellas y es producida por los embriones durante el desarrollo; una vez que el feto se ha formado, la producción del CEA disminuye progresivamente, hasta alcanzar niveles mínimos. En adultos, los niveles normales de CEA en sangre se encuentran dentro del rango de 0 a 2.5 ng/mL. Sin embargo, frente a algunas condiciones de estrés bioquímico, el cuerpo humano incrementa la producción del CEA, por lo que el rango de concentración de CEA se ve aumentado. Por ejemplo, en fumadores adultos el contenido de CEA en sangre se encuentra dentro del rango de 0 a 5 ng/mL [7]. Los niveles de CEA por arriba de 5 ng/mL suelen estar asociados a diversas alteraciones o desviaciones del estado normal fisiológico de un humano sano. Alteraciones como: problemas del hígado y/o vesícula biliar (cirrosis ó colecistitis), tabaquismo, enfermedades intestinales inflamatorias (colitis), infección pulmonar, inflamación del páncreas y úlcera gástrica. Así como a diversos tipos de cáncer como; cáncer de mama; cánceres del aparato reproductor y vías urinarias, cáncer de colon, cáncer de pulmón, cáncer pancreático y cáncer de tiroides [8].

Hall *et al.* [9] realizaron una revisión sistemática de 2,712 artículos que abordaban el papel del CEA en el diagnóstico de algún tipo de cáncer o en el seguimiento del tratamiento. El análisis de estos artículos indicó que niveles superiores a 10 ng/mL de CEA preoperatorio se asociaron con enfermedad avanzada o metastásica y, por lo tanto, un pronóstico más precario. Después de la operación, se encontró que el hecho de que el CEA no volviera a la normalidad era indicativo de enfermedad residual o recurrente.

Si bien el CEA no debe usarse como única herramienta de diagnóstico, debido a que existen algunos hábitos o enfermedades benignas que producen CEA o elevan su concentración, sí puede utilizarse como biomarcador no específico en el diagnóstico y sobre todo en el seguimiento (vigilancia de la respuesta) del tratamiento de los tipos de cáncer antes mencionados. Esto significa que la detección del CEA y sus niveles en sangre no son una prueba determinante de

un padecimiento o enfermedad específica, pero su presencia en un nivel anormal es un signo de alguna alteración fisiológica o enfermedad grave como la presencia de cáncer. Debido a ello, la presencia de la proteína CEA se utiliza, actualmente como prueba clínica para detectar el cáncer y determinar si los tratamientos contra el cáncer están actuando favorablemente.

Adicionalmente, varias organizaciones o sociedades de Oncología Clínica como la Sociedad Estadounidense de Oncología Clínica (ASCO) y el Instituto Nacional de Excelencia Clínica del Reino Unido (NICE), recomiendan la vigilancia del CEA para casos específicos de algunas neoplasias, como es el caso del cáncer colorrectal humano (CCR) [10]–[12].

La detección, cuantificación y monitoreo de los niveles de concentración de la proteína CEA en sangre ayuda al profesional de la salud en el seguimiento terapéutico de diversas neoplasias. Y pueden ayudar también como punto de partida para un diagnóstico temprano, el cual se puede complementar con una historia clínica, así como con un examen clínico completo, en busca de síntomas y signos relevantes de enfermedades benignas y malignas que producen CEA y antecedentes de tabaquismo.

### **2.1.2 Biosensores**

De acuerdo con la IUPAC, un biosensor es un dispositivo integrado por un receptor y un transductor, que puede convertir una respuesta biológica en una señal cuantificable [13]. El diseño y desarrollo de biosensores ha ocupado un lugar central para los investigadores o científicos en la última década, debido a la amplia gama de aplicaciones de biosensores; como la atención médica y el diagnóstico de enfermedades, el control ambiental, el control de la calidad del agua y los alimentos y la administración de medicamentos. Los principales desafíos involucrados en el progreso del biosensor son (i) la captura eficiente de señales de biorreconocimiento y la transformación de estas señales en señales electroquímicas, eléctricas, ópticas, gravimétricas o acústicas (proceso de transducción), (ii) mejorar el rendimiento del transductor, es decir, aumentar sensibilidad, tiempo de respuesta más corto, reproducibilidad y límites de detección bajos incluso para detectar moléculas individuales, y (iii)

miniaturización de los dispositivos biosensores utilizando tecnologías de micro y nano fabricación.

Los biosensores explorados para la detección de CEA, al interior de la academia y grupos de investigación, se han basado principalmente en aptámeros debido a su alta afinidad [14]–[16]. Un aptámero es una molécula de ADN o ARN monocatenario seleccionada *in vitro* de la biblioteca molecular de ácidos nucleicos mediante la evolución de ligandos por enriquecimiento exponencial (SELEX) para combinar específicamente dianas con alta afinidad (ácidos nucleicos, moléculas pequeñas, proteínas, etc.) [16]. El aptámero es flexible, repetible, fácil de reparar y regenerar, sin diferencias entre lotes, lo que ha sido ampliamente utilizado en el campo de los sensores [17]–[22]. Sin embargo, los biosensores basados en aptámeros, requieren de un sistema de transducción que reporte la presencia de CEA cuando el aptámero lo ha detectado. En este sentido, los sensores moleculares basados en variaciones de sus propiedades ópticas pueden ser una buena opción debido a que exhiben propiedades de reconocimiento molecular que se reflejan en una señal óptica o química (electroquímica) fácil de monitorear. Generalmente, el cambio de las propiedades ópticas (espectros UV-vis o de fluorescencia) o electroquímicas de los sensores moleculares es drástico en presencia del analito objetivo; por lo que se les ha denominado como quimiosensores [18], [19].

Los quimiosensores ópticos tienen varias ventajas analíticas para la detección del analito objetivo, como ser fáciles de diseñar, de bajo costo, alta selectividad y sensibilidad, detección a simple vista y aplicaciones en tiempo real. Además, estos quimiosensores ópticos se pueden aplicar para la monitorización *in vitro* e *in vivo* del analito diana. Un quimiosensor óptico se puede diseñar considerando tres partes importantes; unidad de reconocimiento, unidad de señalización y mecanismos de detección [23].

Recientemente Mahmoudi, et. al. (2021), lograron la detección *in situ* de CEA usando películas a base de celulosa y nanocelulosa, las cuales dan señales colorimétricas en presencia de CEA. Estas señales colorimétricas se procesaron y midieron usando un sistema basado en teléfonos inteligentes por lo resulta una propuesta interesante que apunta hacia el diagnóstico en el punto de atención con la capacidad de enviar datos clínicamente relevantes a los proveedores de atención médica incluso en entornos de bajos recursos, como

aseguran los autores [24]. Esto es un claro ejemplo de cómo el diseño y desarrollo de nuevos quimiosensores puede ayudar a lograr un diagnóstico temprano en varias enfermedades de importancia médica y social.

Otro ejemplo, pero sobre la capacidad de los quimiosensores para detectar bajas concentraciones se muestra en el reporte de Pornthip Piyanuch, et. al. (2019), donde se desarrolla un quimiosensor óptico (a base de isotiocianato) capaz de detectar cianuro en concentraciones del orden de 19 ppb (partes por billón) [25].

Adicionalmente Tianyu, et. al. (2019) reportaron el desarrollo de un biosensor plasmónico para la detección de biomarcadores de cáncer de pulmón [26], un quimiosensor con alta sensibilidad y reproducibilidad.

## **2.2 Justificación de la investigación**

El desarrollo de nuevos quimiosensores ópticos que detecten la presencia del CEA en sangre, orina u otros líquidos corporales, puede proporcionar opciones prometedoras para el diagnóstico y seguimiento de diferentes tipos de enfermedades cancerígenas. Lo cual tendría un gran impacto en la detección temprana y en el seguimiento terapéutico de la enfermedad. Las líneas de investigación relacionadas con el desarrollo de quimiosensores han seguido una metodología principalmente experimental —como se explicó en la sección de antecedentes—, para la propuesta de nuevos materiales. Sin embargo, aún hay retos para llevar esta tecnología a una etapa comercial, debido a que requiere grandes inversiones de tiempo y recursos. La industria farmacéutica ha encontrado caminos menos demandantes de tiempo —no así de recursos— al incorporar herramientas de cómputo y supercómputo en la etapa del diseño de fármacos. Al existir similitudes en la metodología de desarrollo de fármacos y de quimiosensores (o biosensores), es posible implementar una metodología de desarrollo acelerado de sensores moleculares basada en herramientas de cómputo.

En este trabajo, se usaron herramientas de química computacional (interacción molecular o Docking), para modelar y estudiar el acoplamiento molecular, entre el CEA y ligandos específicos. Con el objetivo de entender su mecanismo de



acoplamiento y trasladar ese mecanismo al reconocimiento molecular del CEA por un sensor molecular, siguiendo estrategias probadas en el desarrollo de nuevos fármacos.

Este proyecto es el primer paso exploratorio, dentro del contexto de la ciencia e ingeniería de materiales, para desarrollar de manera acelerada y racional nuevos quimiosensores.

## **2.3 Fundamentos teóricos.**

### **2.3.1 Química Supramolecular en Ciencia e Ingeniería de Materiales**

El estudio de los materiales aborda el conocimiento fundamental sobre las propiedades físicas macroscópicas de los materiales e incluye las aplicaciones en diversas áreas de la ciencia y la ingeniería, con un enfoque multidisciplinario, indispensable para lograr que dichos materiales cubran necesidades de la sociedad. En este quehacer, diversas ramas del conocimiento científico, como la física, la química, y diferentes ingenierías, se involucran conformando la ciencia e ingeniería de materiales.

En este contexto, la química supramolecular aporta un fuerte soporte al diseño, caracterización y estudio de las “entidades organizadas que resultan de la asociación de dos o más especies químicas unidas por fuerzas intermoleculares [27].

La química supramolecular se ocupa del estudio de interacciones no covalentes entre moléculas para auto-ensamblarse en complejos moleculares [28]. Estas interacciones van desde el enlace de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas, y electrostáticas hasta el auto-ensamblaje dirigido por plantillas [29]. Por lo que, tanto las estructuras supramoleculares como los biosensores pueden abordarse mediante la química supramolecular y las interacciones no covalentes entre moléculas de reconocimiento y moléculas objetivo.

### **2.3.2 Interacciones No Covalentes**

Generalmente, se reconoce a Johannes Diderik van der Waals, como el primero

en reconocer las interacciones no covalentes, también llamadas interacciones supramoleculares. Estas interacciones no covalentes tienen menor fuerza que los enlaces covalentes, con valores de enlace entre 2 - 300 kJ/mol, mientras que los enlaces covalentes presentan valores de enlace de entre 150 - 450 kJ/mol. De acuerdo con estos valores, puede haber entornos químicos en donde las interacciones no covalentes presentes fuerzas de enlace equiparables a algunas interacciones covalentes [30].

Es por esta razón que las interacciones intermoleculares, son las que constituyen la base de los procesos de auto-ensamblaje supramolecular en sistemas biológicos. Tomando como inspiración estos sistemas de la naturaleza, es factible diseñar nuevos sistemas sintéticos que presenten una elevada eficiencia y selectividad.

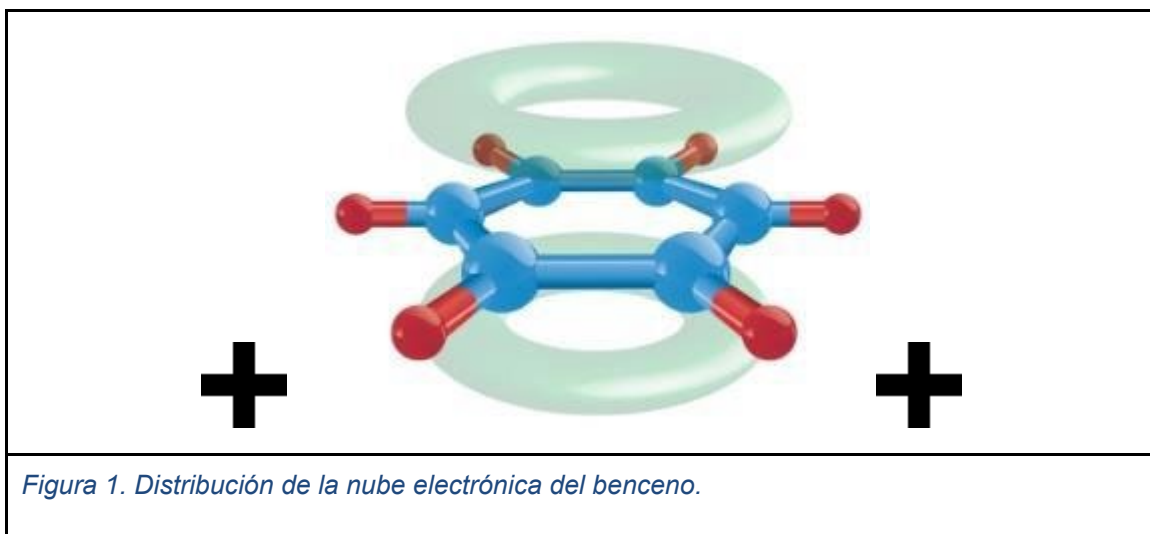
Las interacciones no covalentes se pueden clasificar tomando como criterios como fuerza, direccionalidad, distancia o ángulo de enlace. Así, las interacciones no covalentes se clasifican en interacciones electrostáticas, interacciones  $\pi$ , enlace de hidrógeno, enlace de halógeno y fuerzas de Van der Waals [31].

### **2.3.2.1 Interacciones Electroestáticas.**

Las interacciones electrostáticas se clasifican, a su vez, en interacciones ion-ion, ion-dipolo y dipolo-dipolo y su modelo más generalizado las aproxima a interacciones de cargas puntuales, por lo que la ley de Coulomb puede describirlas perfectamente. En las interacciones electrostáticas, la atracción entre cargas de signo opuesto puede considerarse como su principal componente. Y las diferencias entre ellas son sutiles pero de gran impacto en la química supramolecular, es así como las interacciones ion-ion no son direccionales, mientras que las interacciones ion-dipolo y dipolo-dipolo sí lo son, debido que el dipolo debe orientarse en una determinada dirección para maximizar la intensidad de la interacción [30].

### **2.3.2.2 Interacciones $\pi$ .**

Existen tres tipos de interacciones  $\pi$ ; anión- $\pi$ , catión- $\pi$  y apilamiento  $\pi$ - $\pi$ . Su nombre se debe a que son interacciones moleculares no covalentes en donde interviene la cara de un sistema  $\pi$  que participa en una interacción con otro sistema  $\pi$ , un anión o un catión [32]. Un sistema  $\pi$  se forma cuando existen enlaces covalentes dobles, donde los lóbulos de los orbitales involucrados se solapan entre sí, generando una distribución de cargas caracterizada por la falta de densidad electrónica a lo largo de su eje inter nuclear, lo que ocasiona el surgimiento de un cuadrupolo. El sistema  $\pi$  modelo es el benceno, como se ilustra en la figura 1, la distribución de la nube electrónica genera un momento dipolar permanente rico en electrones en las caras del benceno. Mientras que la baja densidad electrónica a lo largo de su eje Inter nuclear (donde también se sitúan los átomos de hidrógeno) presenta un dipolo positivo, generando un par de dipolos (un cuadrupolo eléctrico) que no se cancelan entre sí. Esto es debido a que las contribuciones de los enlaces carbono-hidrógeno débilmente polares se cancelan debido a la simetría molecular.



Las interacciones  $\pi$  son fundamentales para eventos biológicos tales como el reconocimiento de proteína-sustrato y de manera similar a las interacciones electrostáticas, existe una entidad con carga negativa que interactúa con una carga positiva. Los polos ricos en electrones de un sistema  $\pi$  pueden interactuar con los polos positivos de otro sistema  $\pi$ , así como con un metal (catión o neutro) [33], con un anión o con cualquier otra molécula polar. Por lo que las interacciones  $\pi$  se pueden modelar como interacciones electrostáticas

con un componente de polarización.

El plegamiento de proteínas y la estructura tridimensional del ADN se pueden explicar por el apilamiento de interacciones  $\pi$ - $\pi$  entre anillos aromáticos de las estructuras [34]. El apilamiento de interacciones es resultado de pequeños desplazamientos en el acomodo cara-cara entre anillos, lo cual evita la repulsión debida a la densidad de carga negativa de la nube de electrones  $\pi$ , y las cargas positivas quedan en posición correcta para que se pueda ejercer una fuerza atractiva entre sistemas  $\pi$  apilados [35].

### **2.3.2.3 Enlace de hidrógeno.**

El enlace de hidrógeno es una interacción no covalente (dipolo-dipolo) entre el átomo de hidrógeno unido a un donante electronegativo (por ejemplo N, O ó F) y el par solitario de electrones de un aceptor (electrones no compartidos ó  $\pi$  polarizables), con una energía de enlace de 4 a 50 kJ/mol [36].

El enlace de hidrógeno desempeña un papel integral en la estructura biológica.. Su estudio y aplicación ha permitido diseñar sistemas supramoleculares en diversas aplicaciones, por lo que el enlace de hidrógeno es considerado como la interacción intermolecular más importante de la química supramolecular [37].

### **2.3.2.4 Enlace de halógeno.**

El puente o enlace de halógeno es importante en áreas de química, bioquímica, y ciencia de materiales y se presenta entre un átomo de halógeno (elementos del grupo 17) que posea un enlace covalente (haloorgánicos) y un átomo electronegativo que actúe como base de Lewis. Los átomos de halógeno presentan alta densidad de electrones debido a su alta electronegatividad, por lo que pueden formar interacciones atractivas al funcionar como sitios donantes de electrones (es decir, nucleófilos) [38]. Es conocida, desde hace un siglo atrás, la capacidad de los átomos de halógeno para funcionar como aceptores de enlaces de hidrógeno, además los átomos de halógeno de los halocarbonos pueden funcionar como sitios donadores de electrones para varios elementos químicos. Sin embargo, la densidad de electrones en los átomos de halógeno

se distribuye anisotrópicamente siempre que el átomo se encuentre unido covalentemente. Los enlaces de halógeno presentan fuerzas de enlace de 5 - 180 kJ/mol y tienden a formar ángulos de 180° o muy cercanos a este valor; y la longitud del enlace es corto.

La formación de complejos con enlaces halógenos (bromo y cloro como especiesceptoras de electrones) fue reportada por primera vez a finales del siglo XIX por I. Remsen y JF Norris. Desde entonces, los halogenuros se han estudiado ampliamente para el reconocimiento molecular y desarrollo de sensores moleculares [38], [39].

### **2.3.2.5 Fuerzas de Van der Waals.**

Las fuerzas de dispersión o van der Waals no covalentes fueron descritas por primera ocasión en 1873, por Johannes Diderik van der Waals. Estas fuerzas se presentan en moléculas naturales o sintéticas e influyen en la estructura, estabilidad, dinámica y función de moléculas y materiales. Por lo que su estudio y entendimiento son fundamentales en las áreas de química, biología, física y la ciencia de los materiales [40].

Las fuerzas van der Waals surgen de interacciones electrostáticas entre fluctuaciones en la distribución de electrones entre dos especies que se encuentran cercanas. Incluyen tres diferentes tipos de asociación entre dipolos (i) interacciones entre moléculas con un dipolo permanente que induce un dipolo en otra molécula cercana denominadas como interacción de Debye; (ii) interacciones entre moléculas que poseen dipolos permanentes alienados forma atrayente denominadas como interacciones de Keesom e (iii) interacciones entre moléculas no polares, pero polarizables conocidas como interacción de London o tipo London [41].

El entendimiento de las interacciones no covalentes es fundamental en el estudio de diversos fenómenos que se manifiestan en la naturaleza, así como en el estudio, diseño y caracterización de diversos materiales y tecnologías, como los biosensores. Pero además de las interacciones no covalentes, también existen ciertos fenómenos fisicoquímicos de similar importancia en el diseño y estudio de los biosensores; como el efecto hidrofóbico y la solvatación

que se describen a continuación.

### **2.3.3 Efecto hidrofóbico**

En la química supramolecular, el efecto hidrofóbico se ha estudiado diligentemente debido a su frecuente aparición e importante papel en la química, la biología y en la ciencia e ingeniería de los materiales.

El efecto hidrofóbico se puede entender como la tendencia de las moléculas no polares y los segmentos moleculares en una solución acuosa a evitar el contacto con las moléculas de agua [42]. Es causado por la exclusión de restos apolares de un ambiente acuoso, impulsando la agregación de estos solutos apolares.

La combinación del efecto hidrofóbico y las interacciones de Van der Waals entre solutos, es la principal fuerza impulsora en la formación de muchos complejos supramoleculares en la naturaleza [43]. Por lo que son de gran importancia en el diseño de nuevos fármacos, estudios fisicoquímicos de adsorción y absorción, diseño de membranas y también, en el diseño de sensores y biosensores, así como en diversos materiales inteligentes.

El efecto hidrofóbico solo se presenta bajo un conjunto de factores termodinámicos, responsables del agrupamiento de especies o dominios no polares en un medio acuoso. Se pueden distinguir dos componentes energéticos importantes en el efecto hidrofóbico; el entálpico y el entrópico.

Cuando un huésped desplaza de la cavidad de un anfitrión, moléculas de disolvente, se presenta una prevalencia del componente entálpico. Normalmente la cavidad del anfitrión es hidrofóbica y las moléculas del disolvente polar están ubicadas dentro de la cavidad, lo que disminuye su interacción con los grupos situados en su superficie. Al desplazarse a la matriz del disolvente se estabilizan por interacciones con otras moléculas de disolvente, disminuyendo su energía y, por lo tanto, su entalpía [29].

Por otro lado, cuando un huésped que se encuentra fuera de una cavidad, entra a la cavidad desplazando moléculas de agua y aumentando los grados de libertad, el componente entrópico prevalece. En este caso, el agua que se

encuentra previamente interaccionando dentro de la cavidad presenta menores grados de libertad, cuando estas son desplazadas de la cavidad, por la formación del complejo huésped-anfitrión, aumentan los grados de libertad y la entropía del sistema [44].

#### **2.3.4 Solvatación**

La solvatación es otro fenómeno de importancia en la naturaleza, que se encuentra con frecuencia en los procesos de la vida. Este fenómeno compite con todos los fenómenos de complejación en disoluciones, debido principalmente a que el disolvente se encuentra en exceso la mayoría de las veces. Por lo tanto, la solvatación del huésped y/o del anfitrión puede tener un efecto importante y determinante, sobre la dinámica y cinética de la asociación. En la mayoría de los casos, para que la asociación huésped-anfitrión ocurra, deben romperse las interacciones entre el disolvente el huésped y el anfitrión, lo que no ocurrirá sin consecuencias entálpicas y entrópicas.

#### **2.3.5 Reconocimiento Molecular**

El reconocimiento molecular es el fenómeno mediante el cual una especie química, denominada molécula objetivo, es reconocida e identificada selectivamente por otra molécula receptora o huésped, la cual tiene grupos funcionales adecuados para interactuar de manera no-covalente con la molécula objetivo [45]. Este mecanismo de reconocimiento supramolecular es el mismo que se presenta en diversos mecanismos naturales; por ejemplo, el sistema inmune logra identificar a los microorganismos a través de un reconocimiento molecular de los mismos. De manera similar, sucede con la activación de las enzimas para que actúen sobre sus respectivos sustratos. Adicionalmente, el reconocimiento molecular se basa en la complementariedad del tamaño, la forma y las fuerzas intermoleculares, explorando y aprovechando estas últimas. El entendimiento de las fuerzas de interacción involucradas en el reconocimiento entre especies químicas ha ayudado al diseño y síntesis nuevos

fármacos [46], de forma acelerada a través de la conceptualización de una unidad química con características estéricas y electrónicas necesarias para asegurar tanto el reconocimiento molecular entre un agente externo (fármaco) y un objetivo biológico específico. Esta unidad química recibe el nombre de farmacóforo y ha resultado útil para desarrollar compuestos complejos de manera acelerada.

### **2.3.5.1 Farmacóforos.**

El término farmacóforo fue acuñado por primera vez por Paul Ehrlich a principios de la década de 1900, y posteriormente Monty Kier introdujo el concepto físicoquímico de farmacóforo que se usa actualmente [47].

De acuerdo con la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC), un farmacóforo es una unidad o conjunto de características estéricas y electrónicas necesarias para asegurar la óptima interacción supramolecular entre un objetivo biológico específico y un agente externo; con la intención de activar (o bloquear) la respuesta biológica del objetivo[39]. Se puede considerar a los farmacóforos como un marco molecular que define los componentes mínimos necesarios que son responsables de la actividad biológica de los compuestos. De esta forma, los farmacóforos son un modelo abstracto básico, que se desarrolla usando el conocimiento estructural sobre un objetivo biológico específico. Los modelos farmacóforos se desarrollan utilizando las propiedades estructurales de los ligandos activos que se unen al objetivo biológico. En el desarrollo de fármacos estos modelos se usan para generar una biblioteca de compuestos candidatos a ser fármacos eficientes. Después se genera una lista final con los compuestos con mejor desempeño, esta etapa se le conoce como cribado de candidatos.

El concepto del farmacóforo, ha resultado extremadamente útil para el diseño de fármacos asistido por computadora, sirviendo de como interfaz entre la química médica y la química computacional y logrando acelerar el diseño de nuevos fármacos debido a que posibilitó el uso de técnicas y conceptos in silico [48].

La información del sitio de enlace entre el objetivo biológico y la molécula que



se liga al sitio, también se puede utilizar para crear modelos para el diseño de sensores moleculares. En este caso, el modelo abstracto (farmacóforo) puede generar una biblioteca de compuestos candidatos a quimiosensores y simplificar la búsqueda de la información mínima necesaria para el diseño [49]. Por otro lado, existe software que ayuda en el proceso de búsqueda de farmacóforos para el cribado de los compuestos, en el caso de este trabajo, se seleccionó el ZINCP Harmer (<http://ZINCP Harmer.csb.pitt.edu/>) considerando que es un software gratuito y que tiene compatibilidad con las otras herramientas computacionales que se utilizan en la propuesta [50].

### **2.3.6 Cromóforos y auxocromos**

En química se denomina cromóforo a un arreglo de átomos unidos de manera continua dentro de una molécula orgánica, cuya nube de electrones fotonos de determinada longitud de onda y la transmisión o reflexión del resto de la luz da lugar a un color observable del compuesto [51].

Por otro lado, un grupo de átomos unidos a un cromóforo y que logre modificar la capacidad del cromóforo para absorber luz y por lo tanto su color observable, se conoce como auxocromo [52].

El fluoreno, el antraceno y el xanteno, son compuestos aromáticos policíclicos, ampliamente estudiados y usados en la industria del color y en la industria farmacológica y médica como sustancias de contraste en diversas técnicas de diagnóstico por imagenología [53]–[55]. También son usados como precursores químicos para diversos derivados químicos con amplia aplicación en la industria veterinaria y en medicina [56], [57].

El conocimiento de las propiedades químicas del antraceno y del xanteno sobre sus rutas de síntesis, así como de sus derivados está ampliamente documentado en la literatura [58]–[64]. Por lo que suelen ser buenos candidatos, como estructuras cromóforas para la síntesis de nuevos materiales con propiedades ópticas especiales [65].

### **2.3.7 Quimiosensores.**

Los quimiosensores son entidades químicas que al igual que los fármacos basan su funcionamiento en el reconocimiento molecular con una molécula objetivo. La IUPAC los define como dispositivos que transforman la información química procedente desde la concentración de un componente específico (analito), presente en la muestra, en una señal analíticamente útil [66]. Se compone de dos unidades funcionales básicas; un receptor de señal y un transductor fisicoquímico. El receptor es el encargado de reconocer selectivamente al objetivo biológico o molecular (analito) y lo hace a través del reconocimiento molecular derivado de grupos funcionales presentes en el receptor. Mientras que el transductor es el encargado de transmitir la información macroscópicamente. El reconocimiento molecular debe llevarse a cabo a través de una variación clara de una propiedad fisicoquímica bien definida, susceptible a ser medida a través de un instrumento. En este sentido, es factible utilizar como indicador de un reconocimiento molecular efectivo, la variación de intensidad de una banda tanto de absorción como de emisión de energía en la región del ultravioleta-visible (Uv-Vis); pero también es factible utilizar el desplazamiento de una señal en RMN, y el desplazamiento de un modo vibracional detectable en el infrarrojo, o el desplazamiento de una onda voltamperométrica.

Los quimiosensores ópticos basados en emisión de fluorescencia, variación en la absorción del uv-vis y/o variación cromática son apropiados para un reconocimiento molecular efectivo, debido a la posibilidad de usar una instrumentación ligera para la detección del objetivo, así como alta sensibilidad, e incluso existe la posibilidad de percibir la variación de la emisión de fluorescencia o color de manera visual, sin la necesidad de instrumentación óptica adicional [67].

#### **2.3.7.1 Procesos fotofísicos en quimiosensores ópticos**

Los procesos fotofísicos son procesos físicos resultado de la excitación de una molécula o un sistema de moléculas por radiación electromagnética no-

ionizante (fotones).

Los procesos fotofísicos unimoleculares como absorción fotónica, conversión interna, fluorescencia, cruces intersistemas, fosforescencia, fluorescencia retardada y transiciones electrónicas triplete-triplete, son propios de los quimiosensores y se pueden visualizar usando el diagrama de Perrin-Jablonski (fig. 2)

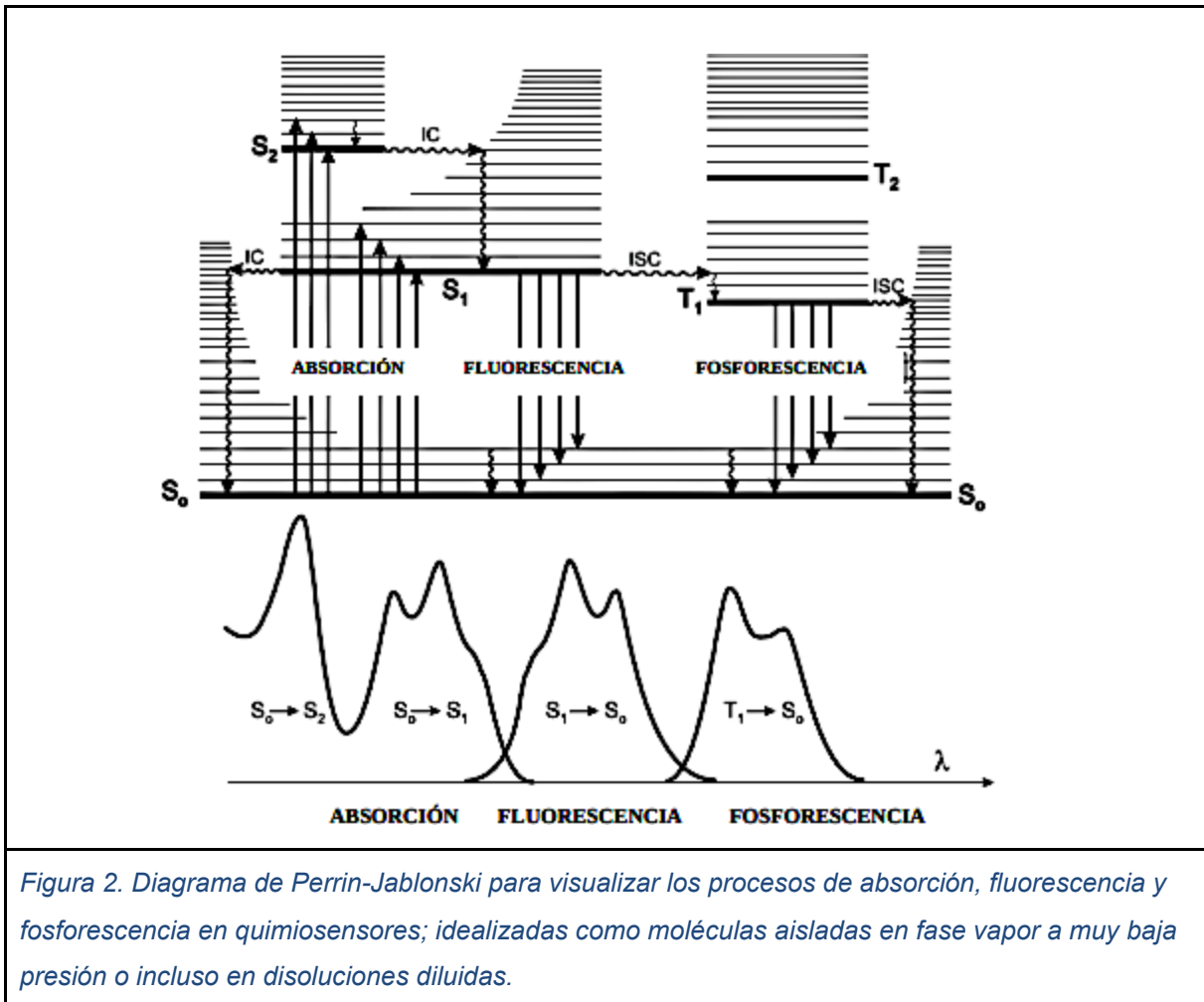


Figura 2. Diagrama de Perrin-Jablonski para visualizar los procesos de absorción, fluorescencia y fosforescencia en quimiosensores; idealizadas como moléculas aisladas en fase vapor a muy baja presión o incluso en disoluciones diluidas.

El diagrama de Perrin-Jablonski explica los procesos de absorción, fluorescencia y fosforescencia de quimiosensores concebidos como moléculas aisladas en fase vapor a muy baja presión o en disoluciones diluidas con comportamiento ideal. En este diagrama se observa, que una molécula en el estado electrónico fundamental  $S_0$  puede absorber un fotón de energía suficiente para que un electrón sea promovido a uno de los niveles vibracionales de los estados electrónicos excitados  $S_1$  o  $S_2$ . Este proceso

fotofísico es representado por las flechas dirigidas de  $S_0$  a  $S_1$  y  $S_2$  de la parte izquierda del diagrama y es conocido como “transición por excitación (absorción) radiativa”.

Esta absorción energética puede desactivarse de forma no radiativa entre niveles vibracionales isoenergéticos de diferentes estados electrónicos. Este fenómeno está representado por las flechas de cuerpo ondulado en la sección izquierda, central y derecha del diagrama y recibe el nombre de “transición no-radiativa”. Normalmente estas transiciones no-radiativas son resultado de la activación térmica del estado electrónico inicial, seguidas de una desactivación térmica para regresar al estado electrónico final. Y cuando este tipo de transiciones se efectúa entre dos estados de la misma multiplicidad se denomina conversión interna. Mientras que una transición entre dos estados de distinta multiplicidad se denomina cruces intersistemas.

Sin embargo, las transiciones de excitaciones por absorción también pueden desactivarse de forma radiativa, emitiendo un fotón y generando luminiscencia (fluorescencia o fosforescencia). Estas transiciones se denominan de desexcitación (luminiscencia) radiativa y si se manifiestan entre estados de la misma multiplicidad se denominan fluorescencia; representadas por las flechas centrales en el diagrama. Mientras que, si se manifiestan involucrando dos estados de distinta multiplicidad se describen como fosforescencia y están representadas por las flechas de la sección derecha del diagrama.

Las transiciones por excitación radiativa o simplemente transiciones por absorción pueden darse, a su vez por 4 diferentes procesos de promoción electrónica:

Absorción de  $S_0 - S_1$  y  $S_0 - S_p$ , donde el subíndice p denota subsecuentes estados electrónicos para estados singlete. Esta transición es permitida por espín, por lo que, normalmente las bandas mayoritarias de un espectro de absorción corresponden a estas transiciones.

Absorción de  $S_0 - T_1$  y  $S_0 - T_q$ , aquí, el subíndice q también denota subsecuentes estados electrónicos, para estados triplete. Esta transición es prohibida por espín, sin embargo, puede ser observado usando fuentes intensas de luz.

Absorción de  $T_1 - T_q$ , donde el subíndice q tiene el mismo significado antes mencionado. Esta transición es comúnmente observada mediante fotólisis flash

y T1 se puede poblar mediante cruce intersistemas de S1, el cual es inicialmente excitado.

Absorción de S1 – Sp, donde S1 es inicialmente poblado mediante luz flash intensa de muy corta duración. Esta transición se puede observar mediante fotólisis flash (en nanosegundos).

De estas cuatro transiciones por absorción de fotones, la que nos interesa es la de S0– T1 y S0 – Tq, la cual es detectable por espectroscopia uv-vis

### **2.3.7.2 Absorción electrónica de quimiosensores orgánicos**

Los quimiosensores ópticos con variación en la transición por absorción en la región del ultravioleta-visible, pueden presentar absorción electrónica en la región del ultravioleta cercano (longitudes de onda de 200 - 400 nm), si están basados en compuestos orgánicos insaturados y en el rango visible (longitudes de 400 - 800 nm). Pero si están basados en compuestos orgánicos saturados, entonces presentarán absorción electrónica en la región del ultravioleta lejano, a longitudes de onda menores de 200 nm.

Esto resulta claro si se considera que, una transición por absorción es una promoción del estado electrónico inferior de la molécula, como un Orbital Molecular ocupado, hacia un estado electrónico de mayor energía no ocupado. Por lo que esta transición se conoce como “transición HOMO-LUMO” ó “gap electrónico” debido a que toma el acrónimo en inglés de Orbital Molecular Ocupado más Alto (Highest Occupied Molecular Orbital; HOMO), así como el acrónimo en inglés de Orbital Molecular vacante más Bajo (Lowest Unoccupied Molecular Orbital; LUMO).

Adicionalmente, los orbitales  $\pi$  enlazantes tendrán mayor energía que los orbitales  $\sigma$  enlazantes, mientras que los orbitales  $\pi$  antienlazantes ( $\pi^*$ ) tendrán menor energía que los orbitales  $\sigma$  antienlazantes (orbitales  $\sigma^*$ ).

Por lo que, la transición ( $\sigma$ - $\sigma^*$ ), se caracterizará por una absorción electrónica desde orbitales  $\sigma$  a orbitales de antienlace  $\sigma$  ( $\sigma^*$ ), la cual ocurren, normalmente en la región del ultravioleta lejano. Mientras que, la transición ( $\pi$ - $\pi^*$ ), presentará una absorción electrónica desde orbitales  $\pi$  enlazante a  $\pi$  antienlazante ( $\pi^*$ ), la cual ocurre, usualmente a longitudes de onda más largas, principalmente en

el ultravioleta cercano y la región visible.

Por otro lado, los compuestos con electrones libres no compartidos, pueden presentar orbitales no enlazantes (orbitales n) con mayor energía que los orbitales enlazantes  $\pi$ ; lo que explica que las transiciones  $n - \pi^*$ , usualmente ocurren en el ultravioleta cercano y en la región visible. Mientras que las transiciones  $n - \sigma^*$  ocurren cerca de los 200 nm o longitudes de onda más largas.

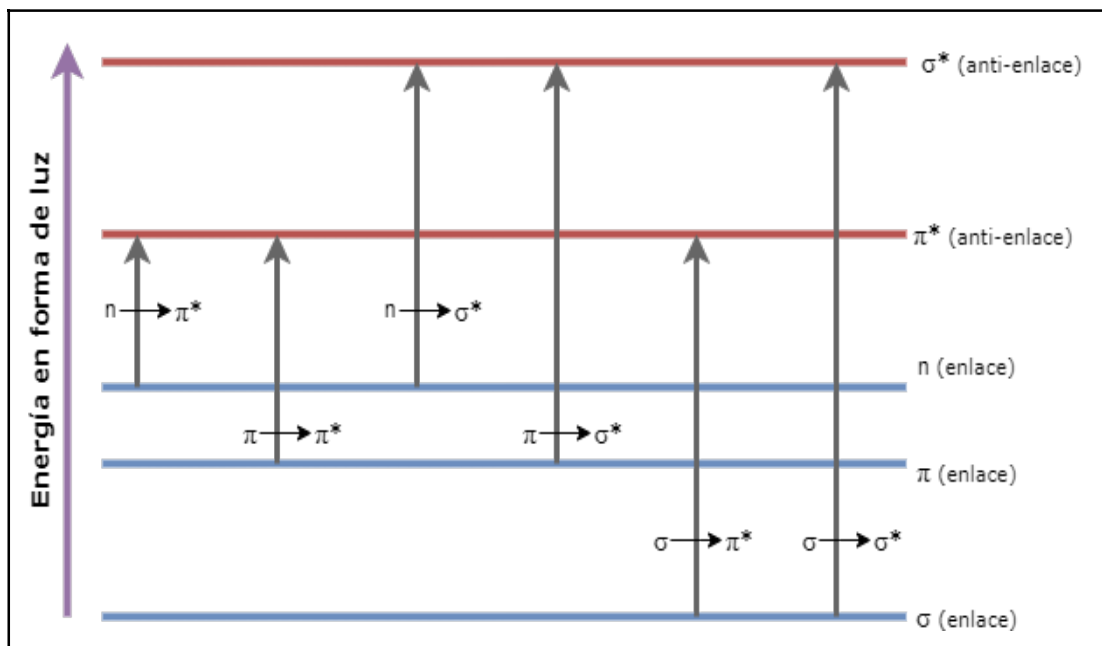


Figura 3. Esquematación de transiciones entre orbitales de enlace y antienlace en la región UV-Visible.

### 2.3.8 Química computacional

Las herramientas asistidas por computadoras contribuyen significativamente en el proceso de toma de decisiones a lo largo de todo el proceso del descubrimiento de nuevo fármacos, incluida la validación de dianas adecuadas, el cribado de alto rendimiento de bibliotecas moleculares, la optimización de los compuestos principales y el equilibrio entre la potencia farmacológica y las propiedades fisicoquímicas y farmacocinéticas [68].

La síntesis de compuestos y las pruebas biológicas son fundamentales para el proceso de desarrollo de fármacos contra el cáncer, sin embargo, la química computacional puede contribuir significativamente al éxito de nuevas estrategias terapéuticas [69]. Por ejemplo, las técnicas de simulación

consolidadas, como la dinámica molecular (MD), el acoplamiento molecular, los cálculos de energía libre, la quimioinformática y los algoritmos de aprendizaje automático se utilizan principalmente para: i) diseñar nuevas entidades químicas capaces de unirse a un objeto determinado y ii) para mejorar la selectividad de compuestos conocidos y compuestos con posibilidad de unión [70].

#### **2.3.8.1 Acoplamiento molecular.**

El acoplamiento molecular es uno de los métodos más utilizados en el diseño de fármacos, específicamente en el diseño de fármacos basado en la estructura (SBDD), por su habilidad de predecir, con cierto grado de exactitud, la conformación de ligandos de molécula con el sitio de unión a la diana apropiada [71]. El primer algoritmo de acoplamiento molecular se desarrolló en 1980 [72]. Las formas de unión del ligando e interacciones intermoleculares que estabilizan el complejo ligando-receptor han sido ampliamente estudiadas desde entonces [73]. Los algoritmos de acoplamiento molecular ejecutan predicciones cuantitativas de las energías de unión, proporcionando clasificaciones de compuestos acoplados según la afinidad de unión de los complejos ligando-receptor.

La identificación de las conformaciones más probables requiere de dos etapas: i) exploración de un gran espacio conformacional que representa varios modos de unión potenciales; ii) predicción precisa de la energía de interacción asociada con cada una de las conformaciones de unión predichas [74].

#### **2.3.8.2 Búsqueda conformacional.**

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 ascendente. Los algoritmos de búsqueda conformacional realizan esta tarea mediante la aplicación de métodos de búsqueda sistemáticos y estocásticos [75].

Los métodos de búsqueda sistemática promueven ligeras variaciones en los parámetros estructurales, cambiando gradualmente la conformación de los ligandos [76]. 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. Aunque el método es eficaz para explorar el espacio conformacional, puede converger a un mínimo local en lugar de un mínimo global. Este inconveniente puede superarse realizando búsquedas simultáneas a partir de diferentes puntos del panorama energético (es decir, conformaciones distintas) [77].

Los métodos estocásticos realizan la búsqueda conformacional modificando aleatoriamente los parámetros estructurales de los ligandos. Para ello, el algoritmo genera conjuntos de conformaciones moleculares y prueba una amplia gama del panorama energético. Esta estrategia evita atrapar 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 asociado con este procedimiento es una limitación importante [78].

### **2.3.8.3 Evaluación de la energía de unión.**

Los programas de acoplamiento molecular utilizan funciones de puntuación para estimar la energía de unión de los complejos de receptor de ligando predichos. La variación de energía, debido a la formación de la estructura ligando-receptor, viene dada por la constante de unión ( $K_d$ ) y la energía libre de Gibbs ( $\Delta G$ ) [79]. La predicción de la energía de unión se realiza mediante la evaluación de los fenómenos físico- químicos más importantes involucrados en la unión ligando-receptor, incluyendo interacciones intermoleculares, desolvatación y efectos entrópicos [80]. Las funciones de puntuación se clasifican en los tres siguientes grupos: funciones basadas en el campo de fuerza, empíricas y basadas en el conocimiento [81]. Las funciones de puntuación basadas en el campo de fuerza estiman la energía de enlace sumando las contribuciones de los términos enlazados (estiramiento del enlace,



flexión del ángulo y variación diédrica) y no enlazados (interacciones electrostáticas y de van der Waals) en una función general. Este tipo de función de puntuación aplica un método *ab initio* para calcular la energía asociada con cada término de la función utilizando las ecuaciones de la mecánica clásica [82].

Las funciones de puntuación empírica son otro tipo de método de evaluación. Cada término de la función describe un tipo de evento físico involucrado en la formación del complejo ligando-receptor. Estos incluyen enlaces de hidrógeno, interacciones iónicas y no polares, así como efectos de desolvatación y entrópicos [83]. Como primer paso en el desarrollo de una función empírica, se utiliza una serie de complejos proteína-ligando con afinidades de unión conocidas como conjunto de entrenamiento para realizar un análisis de regresión lineal múltiple. Luego, las constantes de ponderación generadas por el modelo estadístico se utilizan como coeficientes que ajustan los términos de la ecuación. Un inconveniente de las funciones de puntuación empírica es su dependencia de la precisión de los datos utilizados para desarrollar el modelo [84].

Otro enfoque utilizado para evaluar la energía de unión ligando-receptor son las funciones de puntuación basadas en el conocimiento. El método utiliza potenciales de energía por pares extraídos de complejos ligando-receptor conocidos para obtener una función general [85]. Estos potenciales se construyen teniendo en cuenta la frecuencia con la que se encuentran dos átomos diferentes dentro de una distancia determinada en el conjunto de datos estructurales. Los diferentes tipos de interacciones observadas en el conjunto de datos se clasifican y ponderan según su frecuencia de ocurrencia. La puntuación final se da como la suma de estas interacciones individuales. Como las funciones basadas en el conocimiento no se basan en la reproducción de afinidades vinculantes (métodos empíricos) o cálculos *ab initio* (métodos de campo de fuerza), ofrecen un equilibrio adecuado entre precisión y velocidad [86].

## **2.4 Problema de Investigación.**

Como se mencionó previamente, el antígeno carcinoembrionario (CEA) es un biomarcador no específico, asociado a diversas enfermedades cancerosas. Actualmente se utiliza en el diagnóstico y sobre todo en el seguimiento (vigilancia de la respuesta) del tratamiento de estos tipos de cáncer. La detección del CEA y sus niveles en sangre no son una prueba determinante de un padecimiento o enfermedad específica, pero su presencia en niveles anormales es signo de alguna alteración fisiológica o enfermedad grave como la presencia de cáncer. Debido a ello, la presencia de la proteína CEA se utiliza como prueba clínica para detectar el cáncer y determinar si los tratamientos contra el cáncer están actuando favorablemente.

Sin embargo, en la última década, ha ganado interés el desarrollo de nuevos materiales que permitan el traslado de las pruebas clínicas tradicionales a pruebas de cabecera o pruebas en el lugar de atención (POCT). Las pruebas POCT se refieren a biometrías que se realizan cerca del paciente; en el consultorio, al pie de la cama de hospital, o incluso en la casa del propio paciente; lo que supone una reducción dramática en el tiempo de obtención de resultados clínicos, así como una mejora sustancial en el diagnóstico temprano y en la vigilancia y seguimiento de los tratamientos y su eficacia.

El desarrollar nuevos materiales, adecuados para el diseño de pruebas POCT, conlleva varios retos tecnológicos, que van desde la toma de muestra, hasta la obtención e interpretación de datos, sin la intervención de personal altamente capacitado. Por lo que se requiere diseñar el mecanismo de detección, así como el proceso para reportar la presencia de la sustancia o molécula objetivo, en este caso, la proteína de CEA.

En este sentido, dentro de los sensores químicos, existe un subgrupo de sensores moleculares, también llamados quimiosensores cuya función es la del reconocimiento de una molécula objetivo, seguido por un cambio óptico notable, que anuncie la presencia de dicha molécula objetivo. Este cambio óptico, debe ser detectable fácilmente por el paciente, por lo que normalmente se recurre a un cambio de coloración, o del perfil de absorbancia dentro de la región del uv-vis, o al encendido/apagado (o viceversa) de fluorescencia. Un ejemplo de

estos quimiosensores, se encuentra en las pruebas rápidas de embarazo, las cuales presentan un cambio de coloración ante la presencia de la hormona gonadotropina coriónica humana (hCG).

Para lograr diseñar un material que detecte y reporte de manera sencilla para cualquier persona, la presencia de la proteína CEA en una muestra de sangre, es necesario levantar y analizar información cualitativa respecto a los posibles sitios del CEA, susceptibles de realizar una unión no covalente con sensor molecular o quimiosensor. Este análisis debe considerar información sobre el tipo de interacciones no covalentes que los aminoácidos presentes en la proteína del CEA pueden realizar, así como el tipo de grupos funcionales químicos adecuados para dicha interacción. Adicionalmente, debe resolverse el reto del proceso fisicoquímico por el cual se reportará la presencia de la proteína del CEA.

Por lo que, en este proyecto se planteó abordar la problemática del diseño de nuevos materiales adecuados para la detección de la proteína CEA a través del estudio de nuevos sistemas huésped-anfitrión, con selectividad y afinidad a la proteína CEA para mimetizar los fenómenos de asociación de ligandos endógenos del CEA; además de considerar una estructura molecular base capaz de presentar propiedades ópticas como fluorescencia o un perfil de absorción uv-vis bien definido que pueda utilizarse para reportar la presencia del complejo CEA-quimiosensor.

## **2.5 Hipótesis**

A través de técnicas de acoplamiento molecular (docking), usadas en el desarrollo de nuevos fármacos, es posible estudiar las interacciones químicas entre el antígeno carcinoembrionario (CEA) y algunos ligantes co-cristalizados. A partir del estudio de estas interacciones químicas será posible diseñar una estructura general derivada de la modificación química del antraceno y xanteno que interactúe de manera selectiva con algunos aminoácidos del antígeno carcinoembrionario y que presente propiedades ópticas modulables en presencia/ausencia del CEA, las cuales se podrán seguir a través del uso de un espectrómetro uv-vis.

## **2.6 Objetivo General**

Diseñar y evaluar nuevos sensores moleculares con propiedades ópticas modulables de absorción en la región del uv-vis, basados en la estructura del antraceno o del xanteno, que contengan sitios de acoplamiento molecular para generar un sistema huésped-anfitrión con la proteína del CEA.

## **2.7 Objetivos Específicos**

- Analizar sistemas Ligando-Receptor entre la proteína del CEA y sus ligandos endógenos, reportados previamente en la base de datos Protein Data Bank (PDB).
- Obtener las coordenadas cartesianas del antígeno carcinoembrionario (ACE por sus siglas en inglés) con sus ligandos co-cristalizados (ligandos endógenos), consultando la base PDB.
- Preparar las estructuras de los ligandos co-cristalizados del CEA, eliminando solventes y residuos.
- Generar el archivo de entrada con la información estructural y atómica de cada ligando co-cristalizado del CEA.
- Obtener las coordenadas cartesianas del CEA sin sus ligandos co-cristalizados.

- Optimizar la estructura de cada ligando co-cristalizado del CEA por dinámica molecular.
- Estimar las interacciones ligando-objetivo de los acoplamientos moleculares entre el CEA y sus ligandos co-cristalizados usando la función de puntuación (scoring function).
- Obtener el modelo general de la estructura del quimiosensor adaptando la técnica de diseño de farmacóforo usando la base de datos/servidor ZINCPHarmer tomando en cuenta las interacciones ligando-objetivo.
- Diseñar un banco de moléculas candidatos como quimiosensores a partir del modelo estructural general.
- Evaluar las interacciones entre la molécula objetivo y los candidatos como quimiosensores.
- Definir los parámetros para generar una base de criterios para clasificar y ordenar por prioridad los quimiosensores candidatos, usando los parámetros.

### **3 Desarrollo.**

#### **3.1. Metodología.**

Debido a las similitudes del desarrollo de fármacos con el desarrollo de materiales, se puede utilizar el concepto de farmacóforos para el diseño de biosensores moleculares.

La estrategia para diseñar nuevos sensores moleculares con propiedades modulables de absorción en la región del uv-vis está inspirado en el proceso de diseño de fármacos, el cual consiste en 3 etapas principales: i) la preparación del objetivo molecular, ii) selección del compuesto del banco de datos y iii) realizar el acoplamiento molecular [87]. Sin embargo, se realizan ciertas modificaciones para cumplir con los diferentes objetivos del proyecto. Por lo tanto, la estrategia aplicada consiste en usar una estructura molecular con propiedades ópticas de absorción uv-vis o de fluorescencia, ampliamente estudiadas, como es el caso del antraceno y el xanteno. Estas estructuras se usarán como cabeza de síntesis o como estructuras moleculares base, para

realizar una decoración química con grupos funcionales que reconozcan e interactúen con el CEA.

Para ello, se realizarán las siguientes etapas:

- i) Estimación de las interacciones de ligandos endógenos con el CEA realizando un acoplamiento molecular.
  - a. Realizar una búsqueda en base de datos sobre ligando endógenos del CEA.
  - b. Preparación del objetivo molecular (CEA) y de los ligandos endógenos.
- ii) Análisis de la naturaleza de las interacciones de los ligandos endógenos con el CEA.
- iii) Definir un farmacóforo base usando la información obtenida del paso anterior.
- iv) Generar un banco de moléculas candidatas a quimiosensor.
- v) Evaluar las interacciones entre el CEA y cada candidato mediante acoplamiento molecular y clasificarlos en función de la energía y la eficiencia de la unión. En las siguientes secciones se detalla toda la metodología utilizada.

### **3.1.1 Estimación de las interacciones de ligandos endógenos con el CEA realizando un acoplamiento molecular.**

Se seleccionó al banco de datos de proteínas (PDB, por sus siglas en inglés, <https://www.rcsb.org/>) del Laboratorio de Investigación en Bioinformática Estructural (RCSB; Research Collaboratory for Structural Bioinformatics Protein Data Bank) como la base de datos para la búsqueda de estructuras tridimensionales del CEA y sus ligandos endógenos.

En la base de datos RCSB-PDB se encontraron las diversas estructuras cristalinas de CEA, pero solo cuatro de ellas contenían ligandos endógenos, los cuales se muestran en la figura 4.

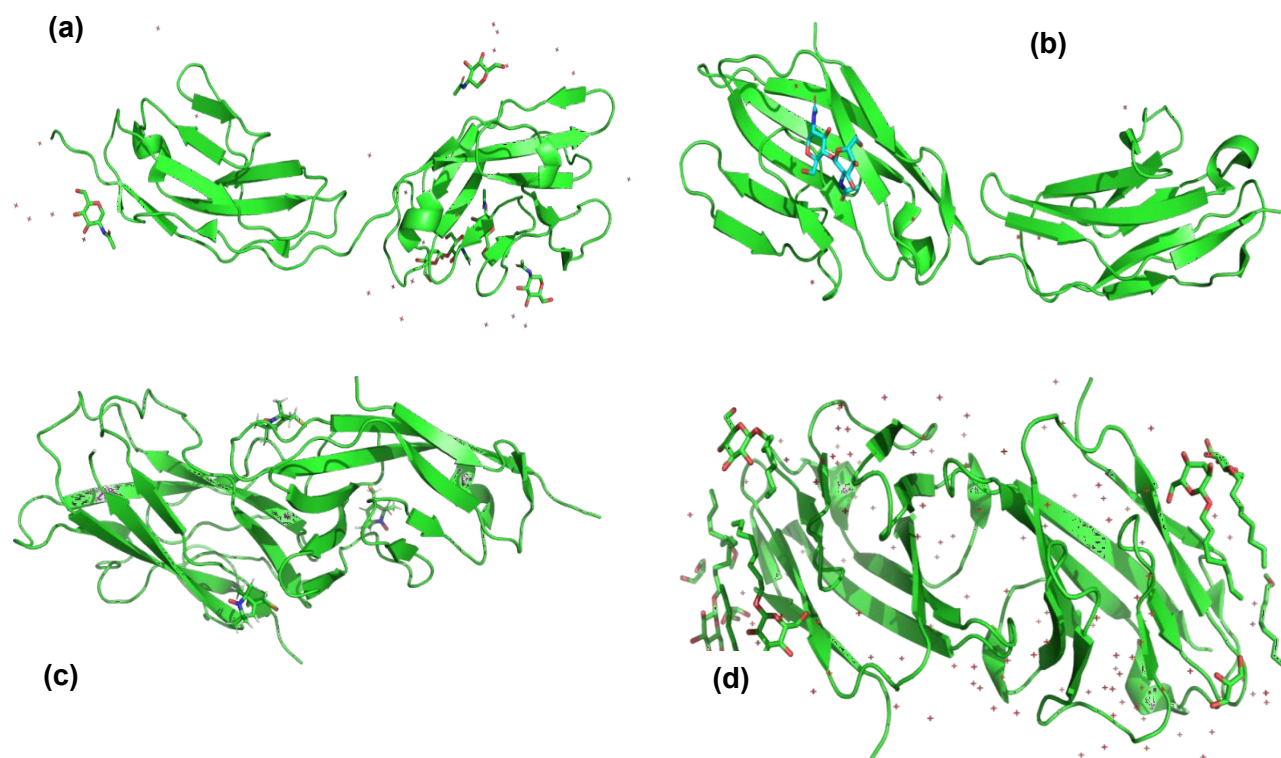


Figura 4. Estructuras cristalinas del CEA con ligandos endógenos, (obtenidos de rcsb.org); (a) estructura 1L6Z; (b) estructura 5VST; (c) estructura 2VER, (d) estructura 4WHD.

### 3.1.2 Preparación del objetivo molecular y de los ligandos.

A partir de las estructuras cristalinas obtenidas de la base de datos del RCSB, con códigos de registro 1L6Z; 5VST; 2VER y 4WHD, se obtuvieron las estructuras, por separado, del CEA, así como la de los ligandos endógenos.

Un total de 6 estructuras (figura 5) fueron obtenidas, de las cuales 5 corresponden a los ligandos endógenos L1, L2, 2VER, 4WHD, y 5VST (figs. 5a-5e), fueron optimizados energéticamente, utilizando un campo de fuerza universal (UFF), para encontrar su geometría más probable.

La sexta estructura (fig 5f) corresponde al cristal del CEA, al cual se le eliminaron impurezas como moléculas de agua no estructurales y remanentes de solvente derivado del proceso experimental de cristalización.

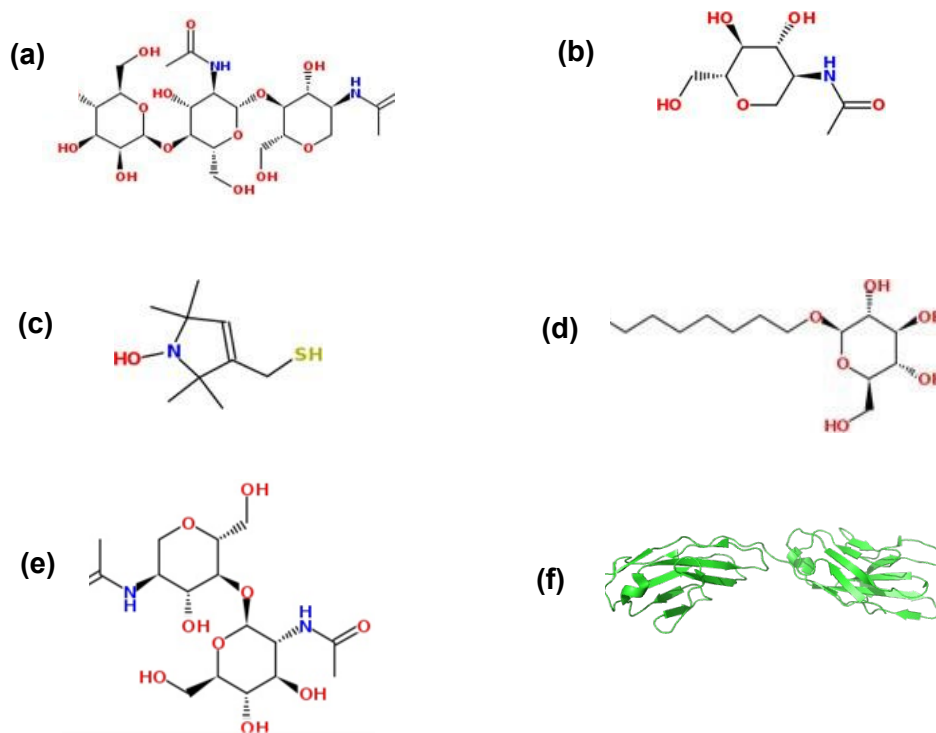


Figura 5. Moléculas obtenidas a partir de las estructuras cristalinas de códigos de registro 1L6Z; 5VST; 2VER y 4WHD CEA: (a) ligando L1; (b) ligando L2; (c) ligando 2VER, (d) ligando 4WHD, (e) ligando 5VST, (f) CEA.

### 3.1.3 Análisis de la naturaleza de las interacciones de los ligandos endógenos con el CEA.

Una vez llevado a cabo la optimización geométrica de cada ligando, así como la limpieza o depuración del CEA se prepara el archivo de entrada para el software autodock4, con el cual se realizó el cálculo de interacciones del acoplamiento molecular existente entre el CEA y cada ligando.

La preparación de archivos de entrada consiste en agregar hidrógenos polares y cargas tanto a la proteína como los ligandos, debido a que los hidrógenos polares, así como las cargas formales están involucrados directamente en la interacción entre la proteína y los ligandos.

Posteriormente, se realiza la simulación del acoplamiento molecular para obtener la información correspondiente a las interacciones no covalentes que se manifiestan entre el CEA y cada uno de los ligandos endógenos. A través de



un campo de fuerza semi-empírico, se cuantifica y se evalúa la energía libre resultante de la unión entre el complejo proteína-ligando donde se puede especificar el número de conformaciones de cada ligando.

Autodock Suite4 contiene dos funciones principales, Autogrid y Autodock4; la primera función, Autogrid, se encarga de realizar el algoritmo de búsqueda, el cual se encarga de buscar diferentes posiciones probables energéticamente de cada uno de los ligandos, acoplados molecularmente al CEA. Para ello realiza el método Monte Carlo, así como un algoritmo genético tipo Lamarckiano [88]. Por otro lado, Autodock se encarga de realizar la función de puntuación, la cual utiliza el campo de fuerza AMBER para calcular la energía asociada a cada pose (posición probable energéticamente), así como las interacciones no covalentes involucradas en cada pose. Es decir, determina fuerzas de Van der Waals, interacciones electrostáticas, enlaces de hidrógenos, entropía conformacional e interacciones de solvatación, en cada pose que toma el ligando endógeno con el CEA.

Finalmente, se analizan las interacciones no covalentes entre los diferentes grupos funcionales de cada ligando con grupos funcionales de los aminoácidos del CEA. La información obtenida se utilizará para determinar las interacciones no covalentes más adecuadas para lograr el acoplamiento molecular entre el quimiosensor y el CEA.

#### **3.1.4 Definir un farmacóforo base.**

Con la información relativa a las interacciones no covalentes que permiten el acoplamiento molecular entre cada uno de los cinco ligandos endógenos y el CEA, se podrá diseñar una estructura química general, a la cual llamaremos farmacóforo, y a partir del cual se generará una base de moléculas candidatas a quimiosensores. Para lo cual se usará el software ZINCPharmer (<http://ZINCPharmer.csb.pitt.edu/>) debido a que tiene compatibilidad con las demás herramientas computacionales utilizadas en este trabajo [50].

### 3.1.4.1 Generación del banco de candidatos como quimiosensor.

Para la generación de los posibles quimiosensores, se utiliza el software Smilib el cual su función es concatenar andamios moleculares y bloques de construcción esto para poder generar una gran cantidad de diferentes estructuras con variación de grupos funcionales, en conjunto con el programa Molinspiration, un visualizador de moléculas, se podrá obtener los posibles candidatos a quimiosensor, esto ya que mediante los grupos funcionales característicos obtenidos anteriormente en el acoplamiento molecular, se adaptan a la estructura base que serán el antraceno y el xanteno (figura 6), utilizando el programa Smilib se crea diferentes localizaciones de los grupos funcionales en la estructura base y así se obtiene el universo posible de quimiosensores.

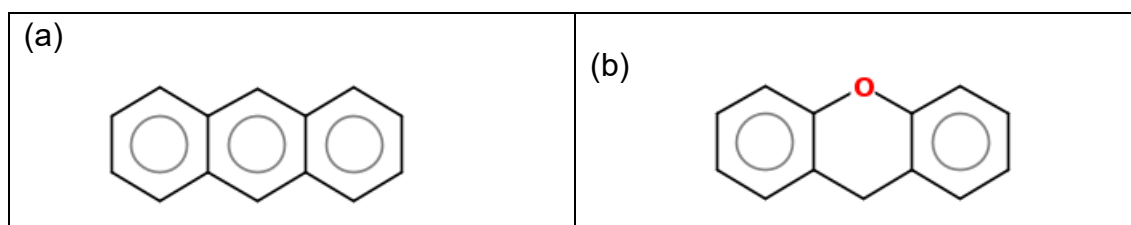


Figura 6. Estructura en dos dimensiones de (a) antraceno y (b) xanteno.

### 3.1.4.2 Evaluar las interacciones entre el CEA y cada candidato.

Finalmente, ya que se obtiene el banco de candidatos a quimiosensores, se analizan realizando Docking a cada quimiosensor con la molécula CEA, para determinar cuál presenta mejores propiedades y de esta manera catalogar de mejor a menor la prioridad como posible quimiosensor.

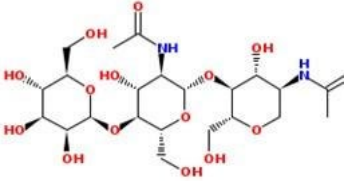
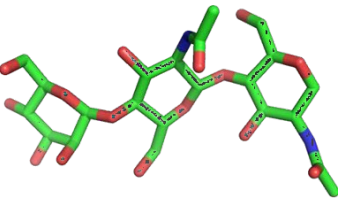
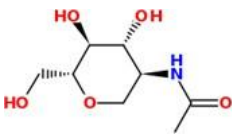
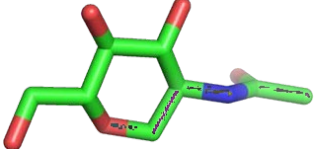
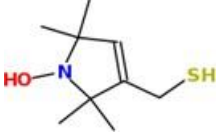
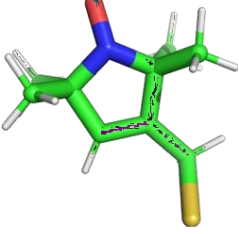
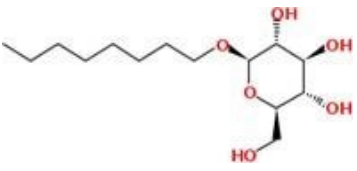
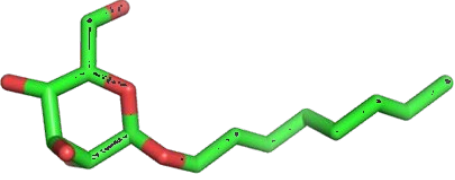
## 4 Resultados.

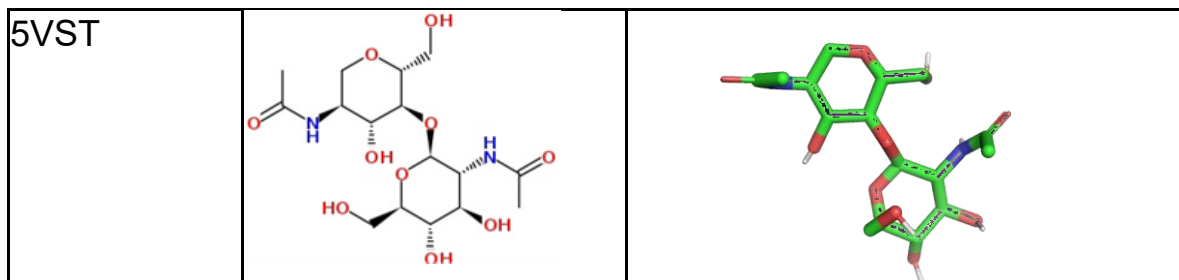
### 4.1. Optimización.

En la tabla 1 se muestran, en la tercera columna, la optimización de geometría de cada uno de los cinco ligandos endógenos, seleccionados de la base de datos PDB. Esta optimización de geometría se realizó en Avogadro usando como

modelo el campo de fuerza universal (UFF, por sus siglas en inglés), el cual es capaz de reproducir la geometría optimizada de todos los elementos de la tabla periódica, así como de compuestos orgánicos y organometálicos con buena aproximación energética, a un costo computacional bajo. Adicionalmente, UFF presenta un nivel de teoría congruente con las siguientes etapas, como el análisis de acoplamiento molecular (docking) de cada ligando con la proteína CEA [89].

*Tabla 1. Ligandos endógenos optimizados.*

Ligando	Estructura en 2D	Estructura optimizada en 3D
L1		
L2		
2VER		
4WHD		



La geometría optimizada, representa la disposición espacial más probable en términos energéticos, de cada ligando. Por lo que, la representación mostrada en la tercera columna de la tabla 1 equivale al conjunto de longitudes y ángulos de enlace más probables para cada ligando. Y en este sentido será esta representación geométrica la usada en los siguientes pasos.

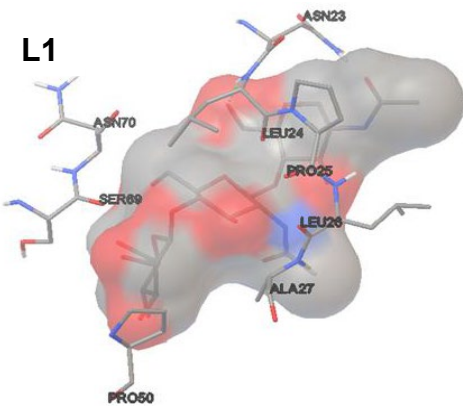
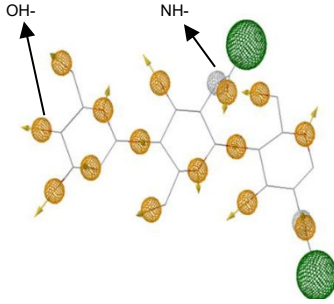
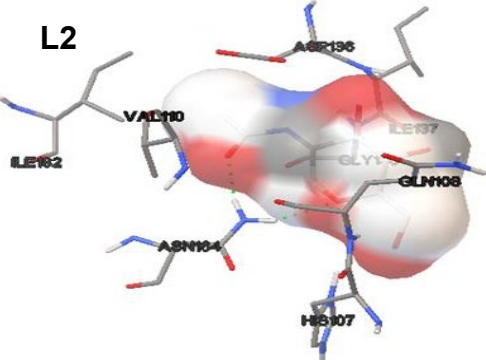
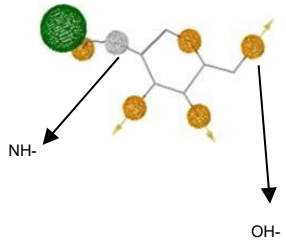
#### 4.2 Interacción de los ligandos endógenos con el CEA.

Una vez determinada la geometría minimizada por energía, se utilizó el programa informático de simulación de modelado molecular AutoDock 4 para predecir el acoplamiento proteína-ligando de cada uno de los ligandos endógenos con el CEA. Es decir, se determinó la factibilidad energética de unión (no covalente) de cada ligando con la proteína CEA como receptor, así como la posición y orientación más probable en caso de acoplamiento proteína-ligando, entre el CEA y cada uno de los ligandos endógenos.

Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 2, en la cual, en la primer columna se muestra la pose (posición y orientación) más probable energéticamente del ligando en cuestión, como los remanentes de los aminoácidos del CEA con los que interactúa en el acoplamiento proteína-ligando. En la segunda columna de la tabla 2, se representan las interacciones no covalentes involucradas en el acoplamiento proteína-ligando, así como los grupos funcionales responsables de cada interacción no covalente. Para facilitar la representación gráfica de esta información, se usó el siguiente código de color: esfera de color gris corresponde a donadores de hidrógenos, esfera de color amarillo correspondiente a aceptor de hidrógeno y esferas verdes corresponden a interacciones entre grupos hidrofóbicos.

En la tercera columna se muestra la energía total de unión del acoplamiento proteína-ligando en Kcal/mol.

Tabla 2. Sitio de unión e identificación de grupos funcionales de los ligandos endógenos y el CEA.

Pose del acoplamiento	Grupos funcionales e interacciones involucradas.	Energía teórica del acoplamiento
<p><b>L1</b></p> 		<p>-6.56 Kcal/mol.</p>
<p><b>L2</b></p> 		<p>-5.71 Kcal/mol</p>

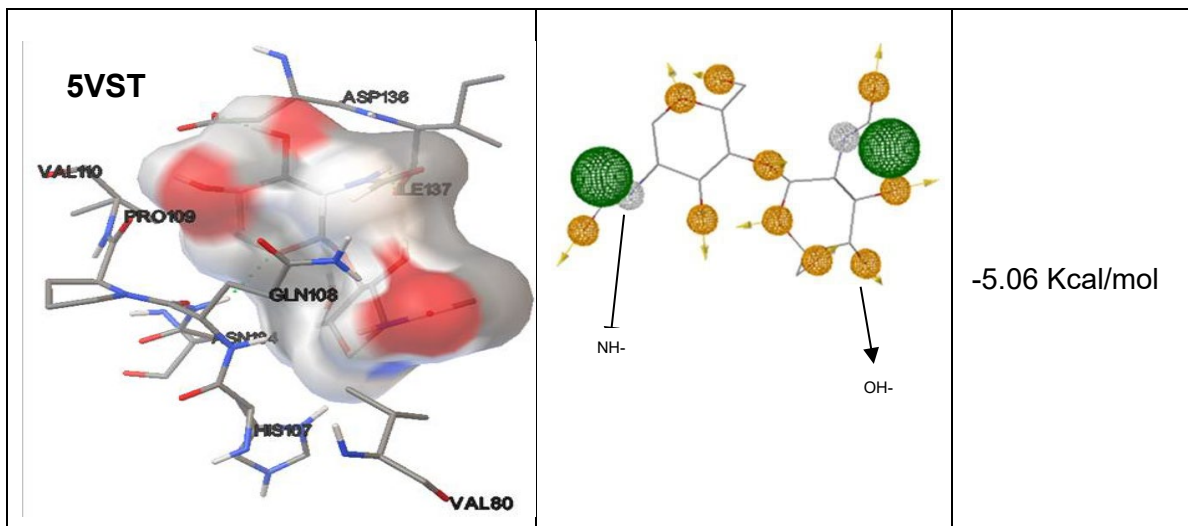
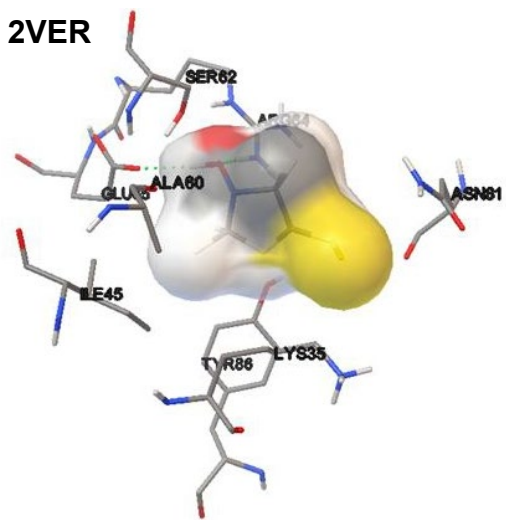
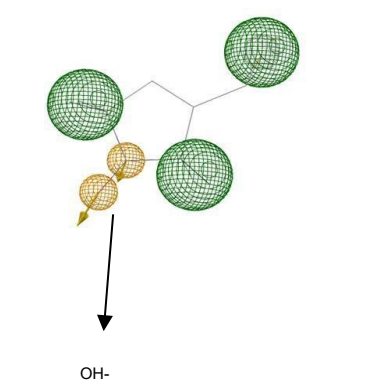
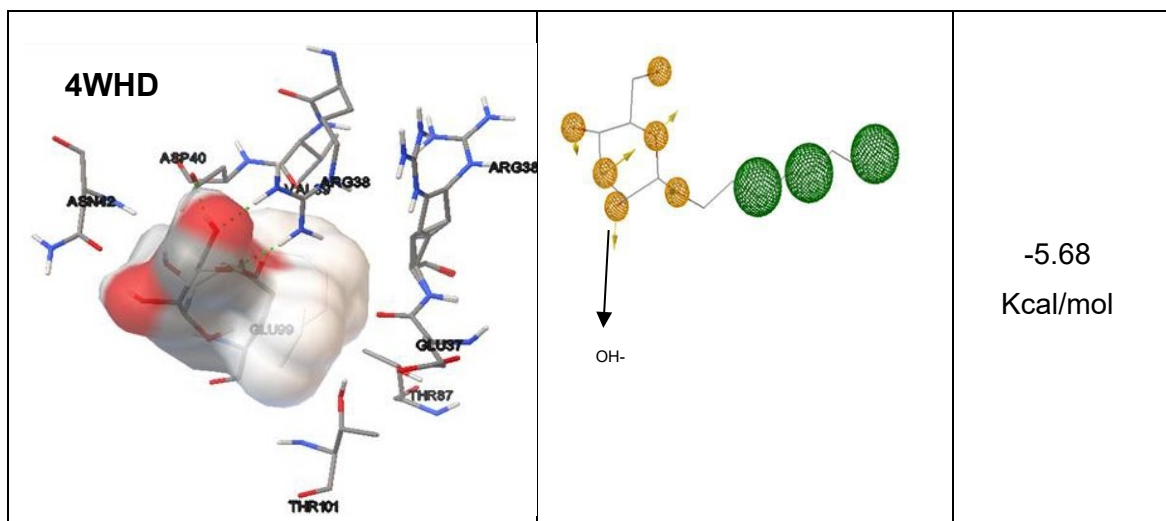


Tabla 2 (continuación). Sitio de unión e identificación de grupos funcionales de los ligandos endógenos y el CEA.

Pose del acoplamiento	Grupos funcionales e interacciones involucradas.	Energía teórica del acoplamiento
<p><b>2VER</b></p> 		<p>-4.77 Kcal/mol</p>



Por ejemplo, en el caso del ligando L1 el acoplamiento proteína-ligando es factible con algunos remanentes de los aminoácidos ASN70, ASN23, SER69, PRO50, ALA27, LEU26, PRO25, LEU24, del CEA; con una energía de unión de -6.56 Kcal/mol. En la tabla 3 se presenta esta información para los cinco ligandos endógenos.

*Tabla 3. Interacción entre los ligandos endógenos y el CEA.*

Ligando	Remanentes de aminoácidos de interacción.	Grupos de interacción aceptor y donador de hidrógeno .	Energía de unión
L1	ASN70, ASN23, SER69, PRO50, ALA27, LEU26, PRO25, LEU24	Grupo hidroxilo Amina secundaria	-6.56 Kcal/mol
L2	ILE182, VAL110, ASN164, HIS107, GLN108, ASP136, ILE137	Grupo hidroxilo Amina secundaria	-5.71 Kcal/mol

5VST	VAL110, PRO109, GLN108, HIS107, ASN104, VAL80, ASP136, ILE137	Grupo hidroxilo Amina secundaria	-5.06 Kcal/mol
2VER	SER62, ALA60, ILE45, TYR86, LYS35, ASN81, ARG64	Grupo tiol Grupo hidroxilo Amina terciaria	-4.77 Kcal/mol
4WHD	ASN42, ASP40, ARG38, GLU99, THR101, THR87, GLU37	Grupo hidroxilo	-5.68 Kcal/mol

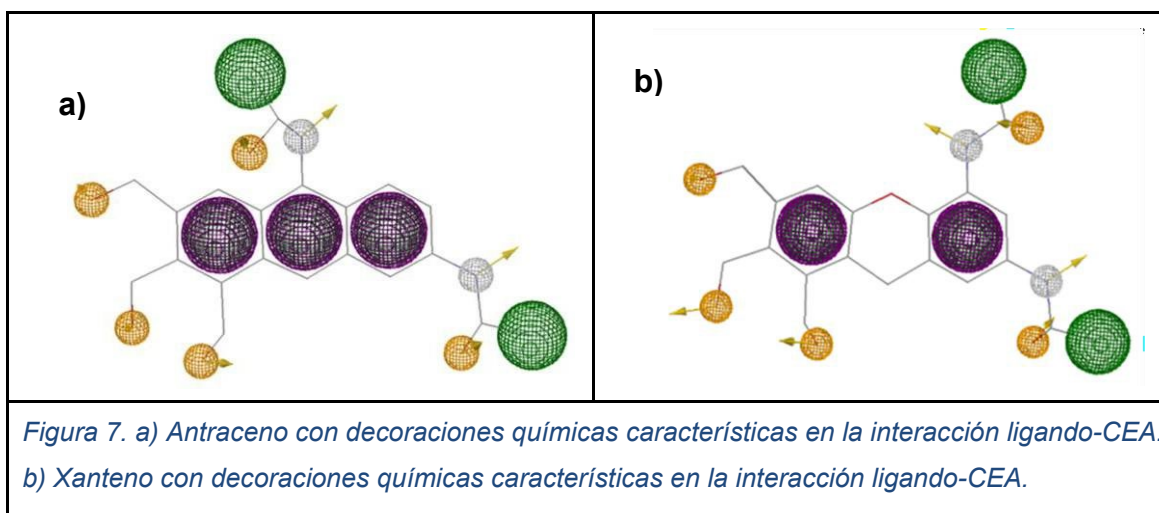
De acuerdo con los resultados presentados en las tablas 2 y 3, para que una molécula logre acoplarse con la proteína CEA, debe tener en su estructura química grupos funcionales que sean buenos aceptores de hidrógenos, pero también se requiere al menos un grupo funcional que sea buen donador de hidrógeno, grupos hidrofóbicos.

En los ligandos endógenos analizados, los grupos hidroxilo y éter actúan como aceptores de hidrógeno; mientras que los grupos amina secundaria con carbonilos vecinos actúan como donadores de hidrógeno; y los grupos tiol y etilo actúan como hidrofobos. Adicionalmente, un mayor número de grupos aceptores de hidrógeno (esferas naranjas) arrojó una energía teórica de acoplamiento más estable (ver ligando L1), por lo que se usará estos rasgos químicos responsables del acoplamiento proteína-ligando para generar una unidad central molecular que sirva de base para generar un banco de ligando no endógenos. Esta unidad central molecular será denominada farmacóforo, en congruencia con la definición de Paul Ehrlich [90], adicionalmente la estructura del antraceno o xanteno formará parte de este farmacóforo para que sea sensible al espectro uv-vis.



### 4.3 Generación del farmacólogo.

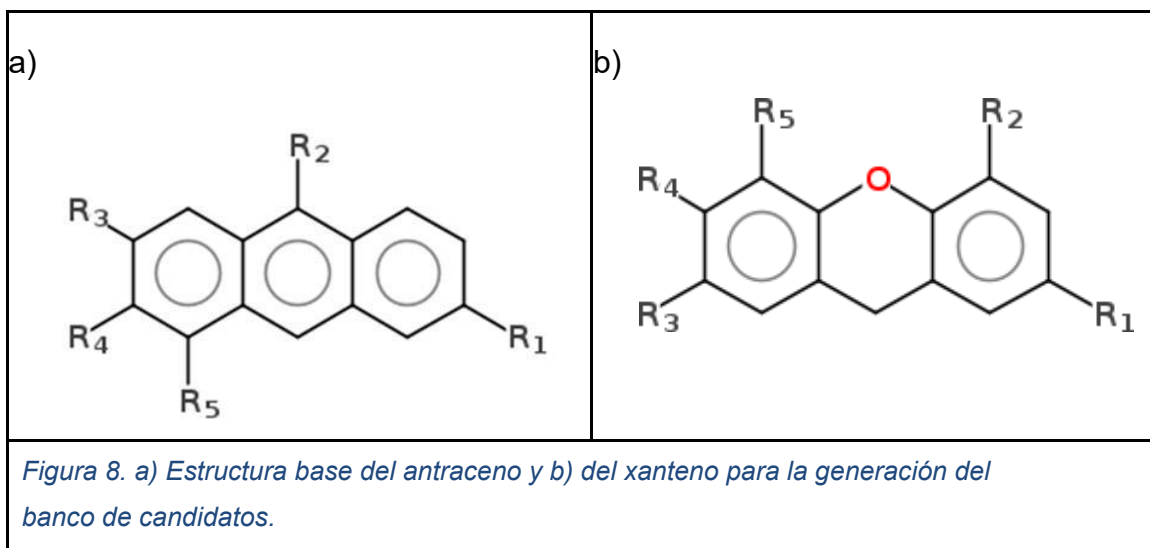
Siguiendo la metodología descrita por Cortés-García et al. [91], la estructura química del antraceno y/o xanteno fueron decoradas con los rasgos estructurales responsables del acoplamiento proteína-ligando descritos en la sección anterior; en la figura 13 se muestran, como ejemplo, dos estructuras químicas propuestas.



Las estructuras de la figura 13 fueron obtenidas decorando la estructura del antraceno y del xanteno con 5 rasgos estructurales tomados del análisis del acoplamiento proteína-ligando entre el CEA y sus 5 ligandos endógenos. Se seleccionaron sólo 5 rasgos estructurales para evitar efectos desfavorables por impedimento estérico y el 60 por ciento de estos rasgos estructurales son aceptores de hidrógeno (esferas naranjas), considerando los rasgos estructurales del ligando L1, el cual presentó la energía teórica de acoplamiento más estable.

La combinación de todas las posiciones posibles para estos 5 rasgos estructurales dará un primer banco de moléculas candidatas a quimiosensores del CEA. También es posible ampliar este banco de moléculas cambiando desde uno hasta los 5 rasgos estructurales seleccionados en la figura 13.

En este trabajo se explora la combinación de posiciones posibles, para lo cual se usó Smilib [92]. Para usar Smilib fue necesario generar los modelos que se presentan en la figura 14.

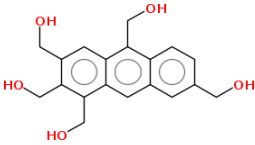
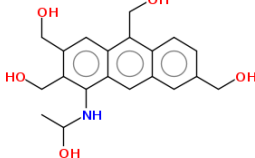
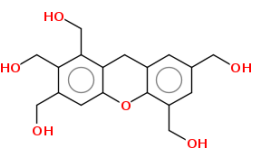
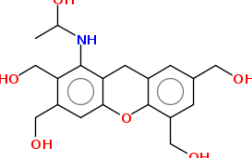


Para ambos modelos presentados en la figura 14, R1 y R2 representan el mismo rasgo estructural, así como R3, R4 y R5 representan grupos hidroxilos. Es decir, en estos dos modelos los grupos “R” no siguen la convención tradicional de la nomenclatura química debido a los requerimientos del paquete Smilib.

#### 4.4 Generación del banco de candidatos a quimiosensor.

Usando los modelos presentados en la figura 14, Smilib encontró un total de 32 moléculas basada en la estructura del antraceno y 32 moléculas basadas en la estructura del xanteno, explorando todas las combinaciones posibles de posición de los rasgos estructurales R1 a R5. En la tabla 5 se muestran las 64 moléculas obtenidas, las cuales conforman la biblioteca de candidatos a quimiosensores:

Tabla 4. Biblioteca generada de moléculas candidatos a quimiosensor.

A partir del antraceno		A partir del xanteno	
<p>A1</p> 	<p>A2</p> 	<p>X1</p> 	<p>X2</p> 

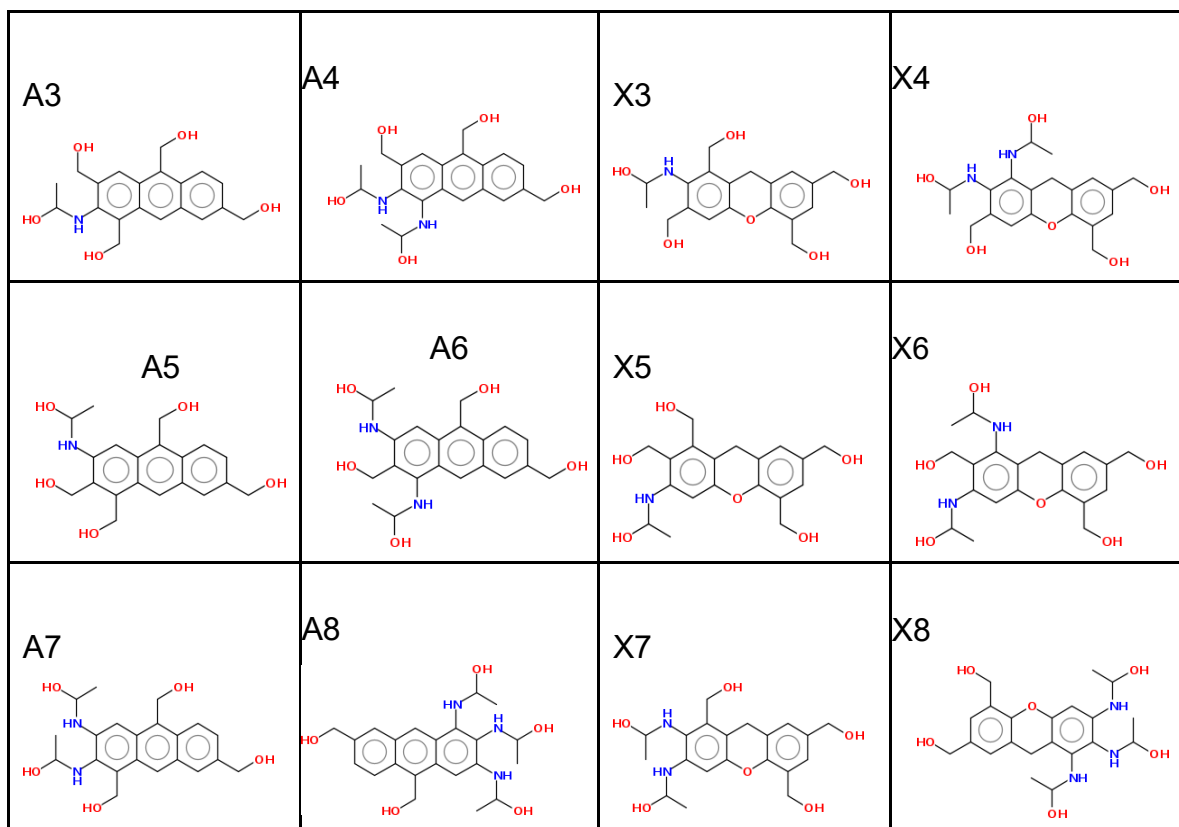
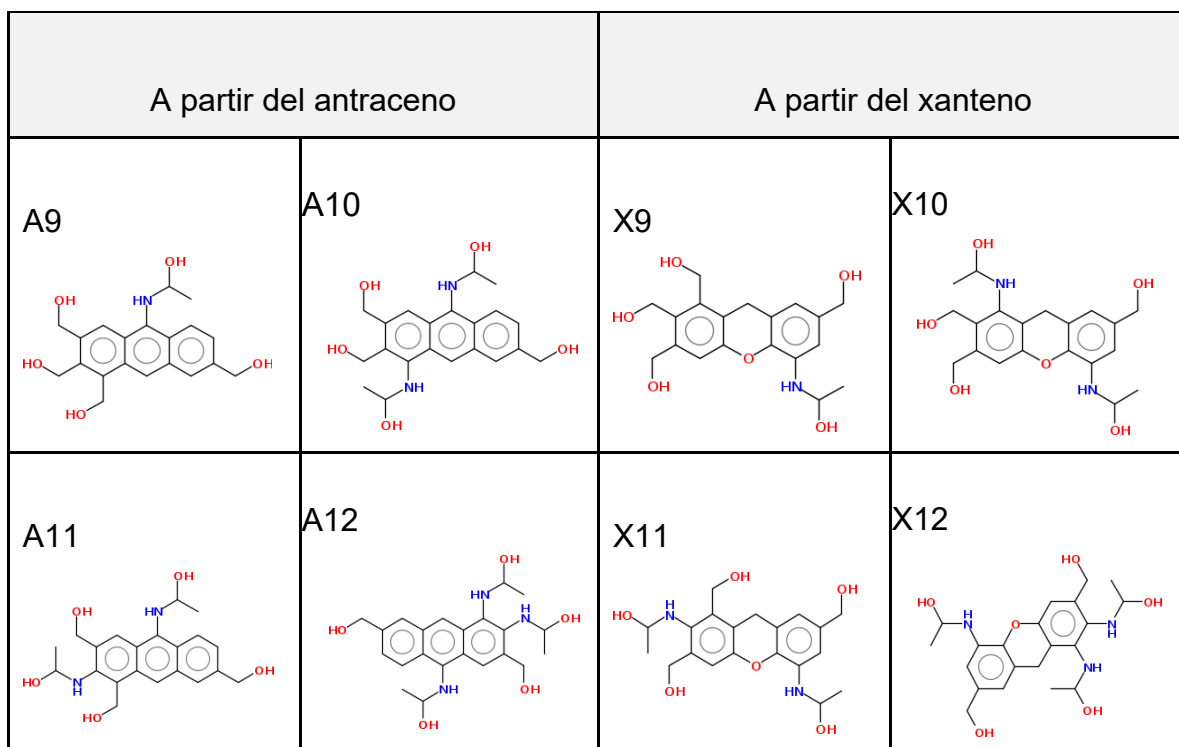
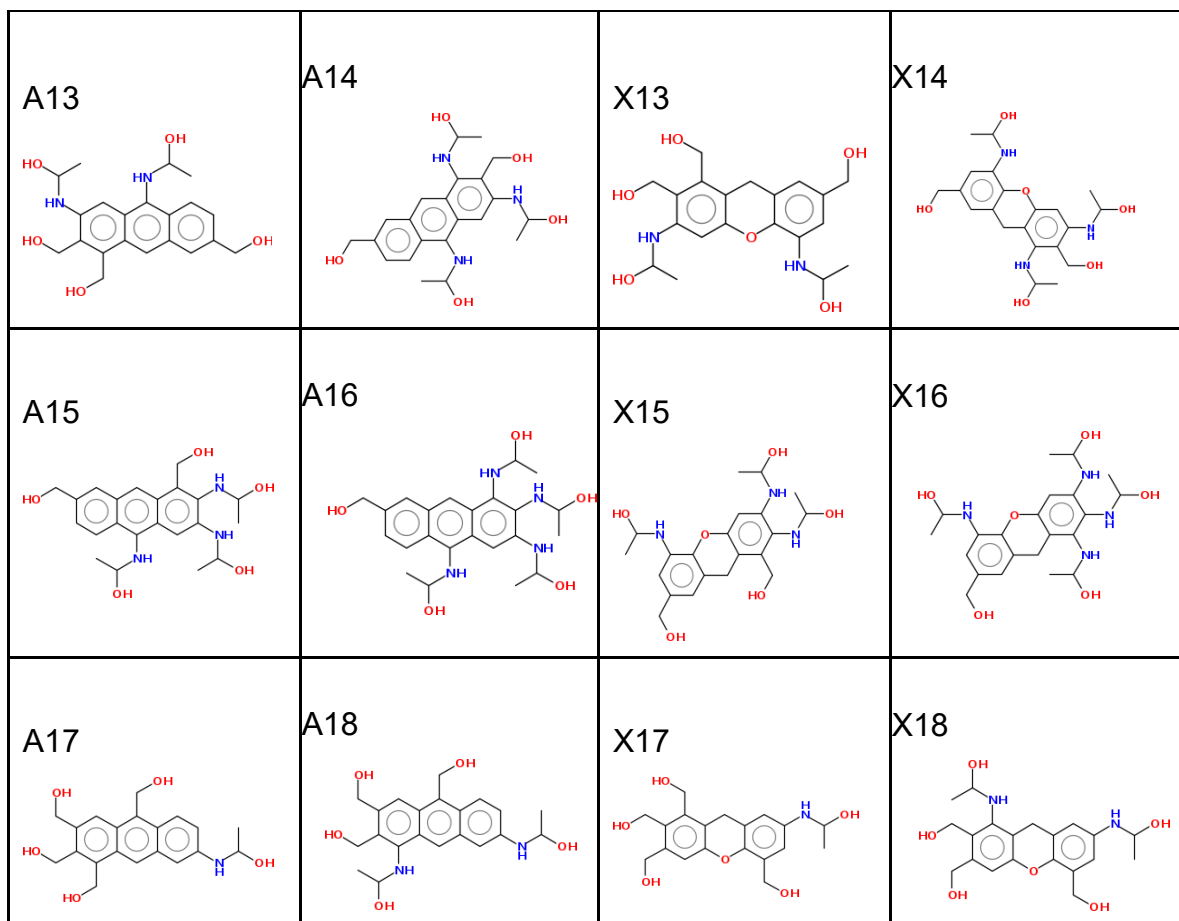
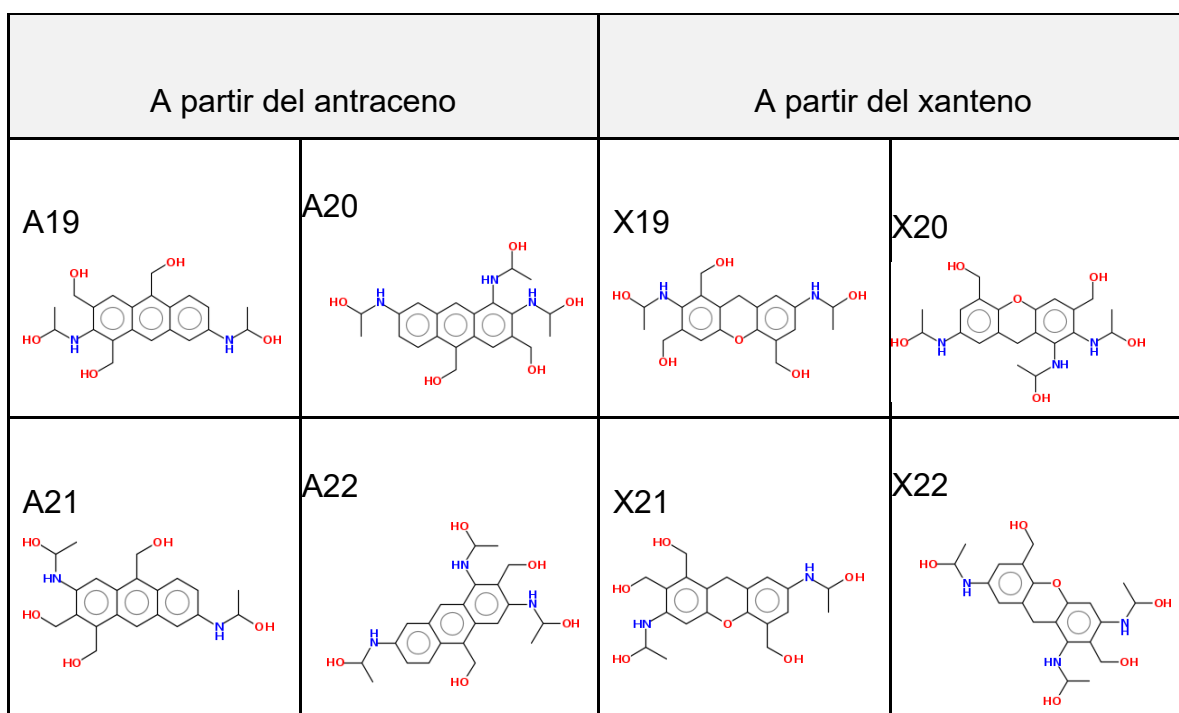


Tabla 4 (continuación). Biblioteca generada de moléculas candidatos a quimiosensor.





*Tabla 4 (continuación). Biblioteca generada de moléculas candidatas a quimiosensor.*



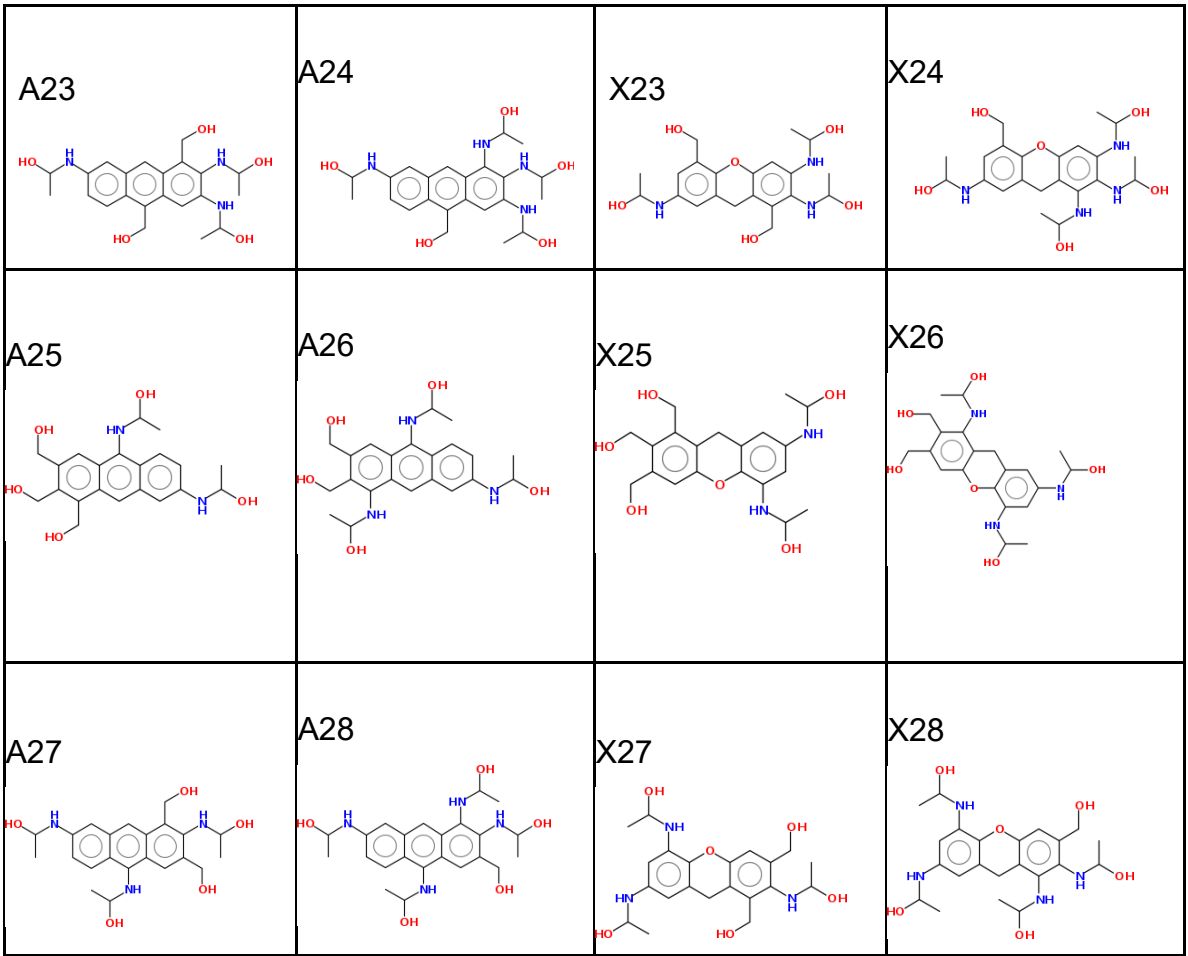
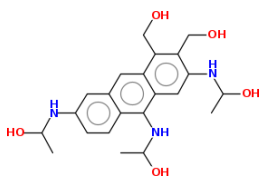
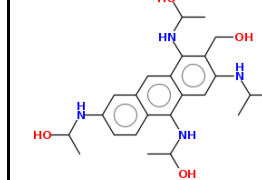
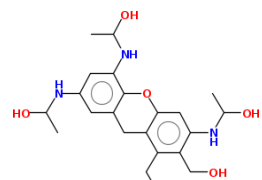
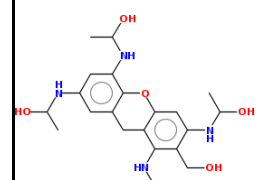
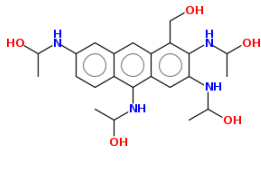
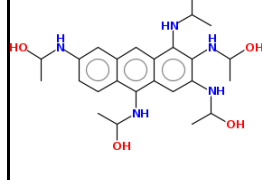
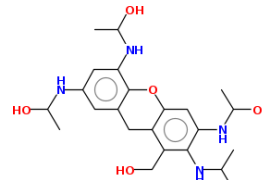
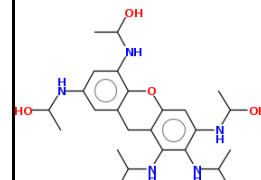


Tabla 4 (continuación). Biblioteca generada de moléculas candidatas a quimiosensor.

A partir del antraceno		A partir del xanteno	
<p>A29</p> 	<p>A30</p> 	<p>X29</p> 	<p>X30</p> 
<p>A31</p> 	<p>A32</p> 	<p>X31</p> 	<p>X32</p> 

#### 4.5 Energías obtenidas entre los ligandos propuestos y la proteína.

De igual manera que con los ligandos endógenos, a los ligandos propuestos se realiza el acoplamiento molecular con el CEA para ver su energía de unión y de esta manera observar cual ligando presenta mejor estabilidad. En la tabla 6 se muestran los resultados obtenidos de las mejores energías entre los ligandos propuestos y el CEA.

Tabla 5. Energías de unión más bajas de los ligandos propuestos.

Ligando	Energía de unión (Kcal/mol)
A26	-7.32
A18	-6.81
A19	-6.59
A14	-6.59
A2	-6.59
A29	-6.58
A8	-6.55
A13	-6.54
A11	-6.54

Observando los resultados obtenidos de las energías de unión a partir de acoplamiento molecular mostrados en la tabla 6, se eligen los 3 primeros ligandos no endógenos, los ligandos A26, A18 y A19 debido al valor de su energía de unión mínima; debido a que estos valores, predicen interacciones más estable en comparación con los demás ligandos no endógenos.

#### 4.6 Interacciones entre las moléculas promisorias y el CEA.

En la figura 15, se muestran las interacciones de los ligandos A26, A18 y A19, ordenados de acuerdo con la energía de unión de cada uno, con el CEA. El ligando A26 y el CEA forman un complejo ligando-proteína como se ilustra en la figura 15a, interactuando a través de un puente de hidrógeno con los remanentes del aminoácido Asp136, además de presentar interacciones por efectos hidrofóbicos con los remanentes de los aminoácidos Gly138, His107 y Gln108.

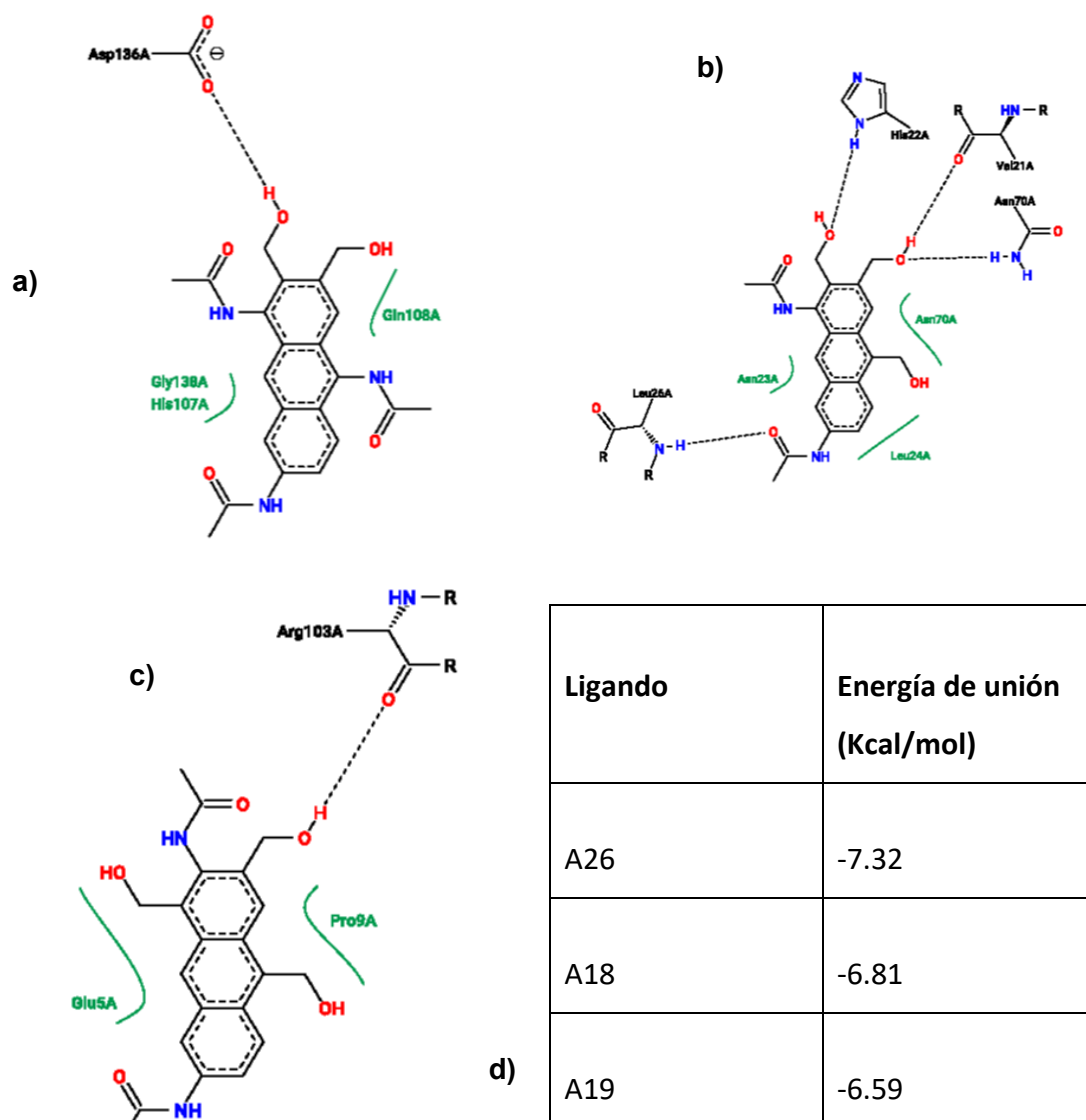


Figura 9. Interacción proteína-ligando; a) entre el ligando A26 y el CEA; b) entre el ligando A18 y el CEA; c) entre el ligando A19 y el CEA; d) Valores teóricos de Energía de unión.

De acuerdo con el diagrama obtenido en la Figura 15b, se observan las interacciones involucradas en el complejo que forma el ligando A18 y el CEA, se muestra que está interaccionando mediante puente de hidrógeno con los



aminoácidos His22, Val21, Asn70 y Leu26, además que está presentando interacciones hidrofóbicas con los remanentes de los aminoácidos Asn70, Leu24 y Asn23.

En la figura 15c se observa el complejo formado por el ligando no endógeno A19 y el CEA, el cual consiste en interacciones mediante puentes de hidrógeno con los remanentes del aminoácido Arg103 e interacciones hidrofóbicas con los remanentes de los aminoácidos Glu5 y Pro9.

#### **4.7 Espectros Uv-Vis predictivos.**

Para observar las propiedades ópticas de en la región del uv-vis, se obtuvieron los espectros ultravioleta-visible de manera teórica realizando el cálculo de la teoría del funcional de la densidad dependiente del tiempo (TD-DFT) el cual trata con sistemas de estados excitados, en donde se utilizó el cálculo para 6 estados excitados.

En la tabla 17a se muestra el espectro uv-vis del ligando A26. Se observa un primer pico de absorción en 260 nm, y además se presenta otro pico de absorción en 380 nm. Debido a que el ligando A26 muestra actividad en el rango del ultravioleta en el espectro electromagnético, por lo tanto, estos resultados nos demuestran que este ligando presenta propiedades fluorescentes.

Por otro lado, en la tabla 17a' de muestra el espectro uv-vis del complejo entre la proteína y el ligando A26. La figura 19 muestra un pico de absorción en 433 nm, en este caso se encuentra en la región visible del espectro electromagnético, esto debido a que el ligando se encuentra acoplado a la proteína donde se encuentra interaccionando con los remanentes de la proteína y por lo tanto muestra cambios en su resonancia.

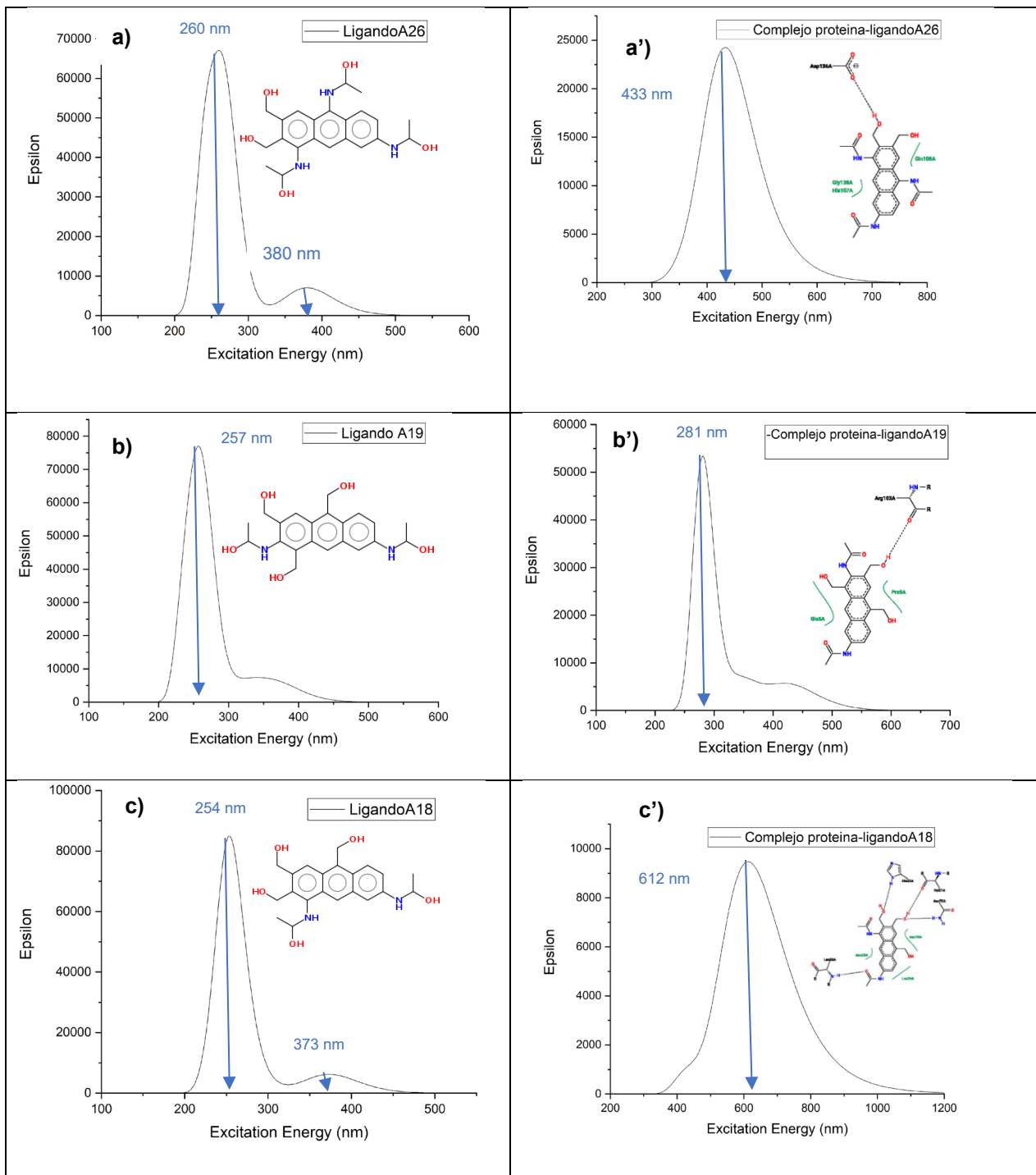


Figura 10. Resultados teóricos de los espectros UV-Vis de los ligandos no endógenos individuales y el complejo formado entre la proteína y el ligando no endógeno; a) ligando A26, a') complejo proteína-ligando A26, b) ligando A19, b') complejo proteína-ligando A19.

## 5 Conclusiones.

A partir de los resultados obtenidos, se evidencia la practicidad de realizar un estudio de acoplamiento molecular a partir de ligandos endógenos del CEA disponibles en bases de datos o literatura. Estos ligandos endógenos son de gran utilidad para identificar y localizar grupos funcionales con relevancia química para realizar la interacción tipo ligando-proteína.

En el caso del CEA, los grupos funcionales aminos, específicamente aminas secundarias, y los grupos hidroxilos, tienden a actuar como grupo aceptor de hidrógeno y grupo donador de hidrógenos, también se observó que el efecto hidrofóbico es importante en la interacción ligando-proteína, proveniente de secciones hidrofóbicas de las cadenas de aminoácidos.

El análisis de acoplamiento molecular entre ligandos endógenos y el CEA arrojó información relevante para establecer parámetros químicos para generar una estructura con rasgos estructurales adecuados para el acoplamiento proteína-ligando con el CEA.

Los rasgos estructurales de los ligandos endógenos fue trasladada como motivos químicos, en una estructura química base decorada con ellos. Adicionalmente, partiendo de una estructura química base, ampliamente conocida y estudiada, la cual presenta propiedades ópticas de absorción en la región del uv-vis, o incluso propiedades de fluorescencia, fue posible generar una serie de propuestas moleculares (moléculas) con probabilidades de formar complejos ligando-proteína con el CEA y reportar la formación del complejo con la variación en sus propiedades ópticas.

La biblioteca obtenida fue de 32 moléculas por cada estructura química base decorada; esto es, 32 posibles moléculas que pueden desempeñarse como quimiosensores del CEA.

Cada una de los 32 quimiosensores obtenidos en cada una de las dos bibliotecas de candidatos, fue sometido a un estudio computacional de acoplamiento molecular con el CEA, encontrado que todos lograban formar complejos ligando-proteína con el CEA. Usando como criterio de clasificación a la energía de unión del complejo ligando-proteína, se logró catalogar de manera prioritaria ambas bibliotecas de quimiosensores.

Los resultados obtenidos a partir del segundo acoplamiento molecular el cual se realizó con los ligandos candidatos, (tabla 4), muestran los ligandos más promisorios para llevar a cabo un análisis más profundo, siendo A26, A18 y A19 los ligandos prioritarios.

A través de un análisis profundo al complejo proteína-ligando de cada ligando, se obtuvo como resultado, que el ligando A26 (el cual presenta una energía de unión de  $-7.32$  Kcal/mol), mantiene interacción con el aminoácido Asp136 mediante puente de hidrógeno, y por otra parte, también muestra interacción con los aminoácidos Gln108, Gly138 y His107 de tipo hidrofóbicos.

Mientras tanto el ligando A18 con (energía de unión de  $-6.81$  Kcal/mol) cuenta con interacciones tipo puente de hidrógeno con los aminoácidos His22, Val21, Asn70 y Leu26, aunque también mantiene interacción con los aminoácidos Asn23, Leu24 y Asn70 mediante interacciones hidrofóbicas.

El tercer ligando propuesto, A19 (con energía de unión de  $-6.59$  kcal/mol), mantiene interacción por medio de puente de hidrógeno con el aminoácido Arg103 y además también presenta interacciones hidrofóbicas con los aminoácidos Glu5 y Pro9.

Finalmente, se obtuvieron los espectros uv-vis de manera teórica tanto del quimiosensor candidato, como del complejo formado por la proteína y el candidato para observar la actividad óptica modulable.

Se observó el espectro del ligando A26 (figura 10a), mostrando un pico máximo en  $257$  nm, correspondiente a la sección del ultravioleta en el espectro electromagnético.

Comparándolo con el espectro al formar el complejo ligando proteína (figura 10a') se puede observar que existe un corrimiento hacia la sección visible del espectro electromagnético, hacia los  $433$  nm, correspondiente a la parte azul.

De manera siguiente, se observa en la figura 10b el espectro uv-vis del ligando A19, que también presenta un pico máximo en la sección ultravioleta, y si se compara con el espectro uv-vis del complejo proteína con el ligando A19, no existe ningún cambio notable.

Analizando el espectro uv-vis del ligando A18, se observa que existe absorción en la sección ultravioleta del espectro electromagnético, correspondiente al antraceno, por otro lado, observando el espectro uv-vis de la formación del complejo proteína con el ligando A18 (figura 10c') se muestra que también

existe un corrimiento hacia la sección visible del espectro electromagnético en 612 nm.

Estos resultados de espectros uv-vis indican que las decoraciones químicas adaptadas a la estructura principal no afectan sus propiedades de absorción en la región del uv-vis, ya que presentaron absorción en el espectro ultravioleta.

## Bibliografía.

- [1] «Cancer». <https://www.who.int/westernpacific/health-topics/cancer> (accedido 14 de diciembre de 2021).
- [2] «Cancer today». <http://gco.iarc.fr/today/home> (accedido 14 de diciembre de 2021).
- [3] «El diagnóstico temprano del cáncer salva vidas y reduce los costos de tratamiento». <https://www.who.int/es/news/item/03-02-2017-early-cancer-diagnosis-saves-lives-cuts-treatment-costs> (accedido 14 de diciembre de 2021).
- [4] F. J. O. Carrillo, «El estado actual y el futuro de los biomarcadores moleculares en el cáncer», vol. 9, p. 3, 2010.
- [5] W. Bigbee, R. B. Herberman, y R. B. Herberman, «Tumor Markers and Immunodiagnosis», *Holland-Frei Cancer Medicine. 6th edition*, 2003, Accedido: 14 de diciembre de 2021. [En línea]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK12339/>
- [6] F. H. Schröder *et al.*, «Screening and Prostate-Cancer Mortality in a Randomized European Study», *N Engl J Med*, vol. 360, n.º 13, pp. 1320-1328, mar. 2009, doi: 10.1056/NEJMoa0810084.
- [7] «CEA blood test», *UF Health, University of Florida Health*, 4 de enero de 2012. <https://ufhealth.org/cea-blood-test> (accedido 14 de diciembre de 2021).
- [8] «HCG in Blood Serum, Quantitative», [ucsfhealth.org](https://www.ucsfhealth.org/Medical-Tests/003510). <https://www.ucsfhealth.org/Medical-Tests/003510> (accedido 14 de diciembre de 2021).
- [9] C. Hall *et al.*, «A Review of the Role of Carcinoembryonic Antigen in Clinical Practice», *Ann Coloproctol*, vol. 35, n.º 6, pp. 294-305, dic. 2019, doi: 10.3393/ac.2019.11.13.
- [10] «1997 update of recommendations for the use of tumor markers in breast and colorectal cancer. Adopted on November 7, 1997 by the American Society of Clinical Oncology.», *JCO*, vol. 16, n.º 2, pp. 793-795, feb. 1998, doi: 10.1200/JCO.1998.16.2.793.
- [11] J. A. Meyerhardt *et al.*, «Follow-Up Care, Surveillance Protocol, and Secondary Prevention Measures for Survivors of Colorectal Cancer: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline Endorsement», *JCO*, vol. 31, n.º 35, pp. 4465-4470, dic. 2013, doi: 10.1200/JCO.2013.50.7442.
- [12] P. Orchard *et al.*, «Removing hospital-based triage from suspected colorectal cancer pathways: the impact and learning from a primary care-led electronic straight-to-test pathway», *BMJ Qual Saf*, vol. 30, n.º 6, pp. 467-474, jun. 2021, doi: 10.1136/bmjqs-2019-009975.
- [13] D. R. Thevenot, K. Toth, R. A. Durst, y G. S. Wilson, «Electrochemical biosensors: recommended definitions and classification», p. 11, 2001.
- [14] C. Ma *et al.*, «Multiplexed aptasensor for simultaneous detection of carcinoembryonic antigen and mucin-1 based on metal ion electrochemical labels and Ru(NH<sub>3</sub>)<sub>6</sub><sup>3+</sup> electronic wires», *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 99, pp. 8-13, ene. 2018, doi: 10.1016/j.bios.2017.07.031.
- [15] M. Ahmadzadeh-Raji, E. Ghafar-Zadeh, y G. Amoabediny, «An Optically-Transparent Aptamer-Based Detection System for Colon Cancer Applications Using Gold Nanoparticles Electrodeposited on Indium Tin Oxide», *Sensors*, vol. 16, n.º 7, p. 1071, jul. 2016, doi: 10.3390/s16071071.
- [16] H. Khang, K. Cho, S. Chong, y J. H. Lee, «All-in-one dual-aptasensor capable of rapidly quantifying carcinoembryonic antigen», *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 90, pp. 46-52, abr. 2017, doi: 10.1016/j.bios.2016.11.043.
- [17] S. Catuogno, C. Esposito, y V. de Franciscis, «Aptamer-Mediated Targeted Delivery of Therapeutics: An Update», *Pharmaceuticals*, vol. 9, n.º 4, p. 69, nov. 2016, doi: 10.3390/ph9040069.
- [18] M. Yüce, N. Ullah, y H. Budak, «Trends in aptamer selection methods and applications», *Analyst*, vol. 140, n.º 16, pp. 5379-5399, 2015, doi: 10.1039/C5AN00954E.
- [19] C. Perez-Gonzalez, D. A. Lafontaine, y J. C. Penedo, «Fluorescence-Based Strategies to Investigate the Structure and Dynamics of Aptamer-Ligand Complexes», *Front. Chem.*, vol. 4, ago. 2016, doi: 10.3389/fchem.2016.00033.
- [20] N. Duan, S. Wu, S. Dai, T. Miao, J. Chen, y Z. Wang, «Simultaneous detection of

pathogenic bacteria using an aptamer based biosensor and dual fluorescence resonance energy transfer from quantum dots to carbon nanoparticles», *Microchim Acta*, vol. 182, n.º 5-6, pp. 917-923, abr. 2015, doi: 10.1007/s00604-014-1406-3.

[21] S. C. B. Gopinath, T. Lakshmipriya, Y. Chen, W.-M. Phang, y U. Hashim, «Aptamer-based 'point-of-care testing'», *Biotechnology Advances*, vol. 34, n.º 3, pp. 198-208, may 2016, doi: 10.1016/j.biotechadv.2016.02.003.

[22] S. M. Nimjee, R. R. White, R. C. Becker, y B. A. Sullenger, «Aptamers as Therapeutics», p. 23, 2018.

[23] X. Sun, C. Brückner, M.-P. Nieh, y Y. Lei, «A fluorescent polymer film with self-assembled three-dimensionally ordered nanopores: preparation, characterization and its application for explosives detection», *J. Mater. Chem. A*, vol. 2, n.º 35, pp. 14613-14621, 2014, doi: 10.1039/C4TA02554G.

[24] T. Mahmoudi, M. Pourhassan-Moghaddam, B. Shirdel, B. Baradaran, E. Morales-Narváez, y H. Golmohammadi, «On-Site Detection of Carcinoembryonic Antigen in Human Serum», *Biosensors*, vol. 11, n.º 10, p. 392, oct. 2021, doi: 10.3390/bios11100392.

[25] P. Piyanuch *et al.*, «A Near-Infrared Fluorescence Chemosensor Based on Isothiocyanate-Aza-BODIPY for Cyanide Detection at the Parts per Billion Level: Applications in Buffer Media and Living Cell Imaging», *ChemPlusChem*, vol. 84, n.º 3, pp. 252-259, mar. 2019, doi: 10.1002/cplu.201800574.

[26] T. Xue *et al.*, «Ultrasensitive detection of miRNA with an antimonene-based surface plasmon resonance sensor», *Nat Commun*, vol. 10, n.º 1, p. 28, dic. 2019, doi: 10.1038/s41467-018-07947-8.

[27] J. Zukerman-Schpector, I. Haiduc, y E. R. T. Tiekink, «Supramolecular Self-assembly of Transition Metal Carbonyl Molecules Through M-CO(Lone Pair)... $\pi$ (Arene) Interactions», en *Advances in Organometallic Chemistry*, vol. 60, Elsevier, 2012, pp. 49-92. doi: 10.1016/B978-0-12-396970-5.00002-5.

[28] N. Tomioka, D. Takasu, T. Takahashi, y T. Aida, «Electrostatic Assembly of Dendrimer Electrolytes: Negatively and Positively Charged Dendrimer Porphyrins», *Angewandte Chemie International Edition*, vol. 37, n.º 11, pp. 1531-1534, jun. 1998, doi: 10.1002/(SICI)1521-3773(19980619)37:11<1531::AID-ANIE1531>3.0.CO;2-T.

[29] G. W. Gokel, L. J. Barbour, y J. L. Atwood, Eds., *Comprehensive supramolecular chemistry II*. Amsterdam, Netherlands ; Boston: Elsevier, 2017.

[30] S. Scheiner, «Understanding noncovalent bonds and their controlling forces», *J. Chem. Phys.*, vol. 153, n.º 14, p. 140901, oct. 2020, doi: 10.1063/5.0026168.

[31] Ana González Bértola, «Enhebrando moléculas: estudio de las interacciones no covalentes en un pseudorrotaxano», Universidad de Coruña, 2016.

[32] J. Torres Carabantes, «Estudio de las interacciones pi-pi. Factores estructurales y electronicos en la alquilacion de cetonas», Universidad de Castilla-La Mancha.

[33] L. Montalvillo, «Glicoquímica y reconocimiento molecular: influencia de las interacciones de apilamiento CH/ $\pi$  sobre la reactividad de glicósidos», p. 303.

[34] Julio Luis Bacarizo Roa, «ESTUDIOS ESTRUCTURALES DE PROTEÍNAS DIMÉRICAS ENTRECruzADAS: IMPLICACIONES BIOLÓGICAS DEL DESPLAZAMIENTO DE DOMINIOS», Universidad de Almería, Almería, 2015.

[35] Ana Angustias Rodríguez Sanz, «Computational study of the capability of the side chains of amino acids for setting up cation... $\pi$  interactions relevant in protein stability and structure», Universidade de Santiago de Compostela, 2015.

[36] G. A. Jeffrey, *An introduction to hydrogen bonding*. New York: Oxford University Press, 1997.

[37] D. Herschlag y M. M. Pinney, «Hydrogen Bonds: Simple after All?», *Biochemistry*, vol. 57, n.º 24, pp. 3338-3352, jun. 2018, doi: 10.1021/acs.biochem.8b00217.

[38] G. Cavallo *et al.*, «The Halogen Bond», *Chem. Rev.*, vol. 116, n.º 4, pp. 2478-2601, feb. 2016, doi: 10.1021/acs.chemrev.5b00484.

[39] I. Remsen y J. F. Norris, «Action of the halogens on the methylamines», *Chem. J.*, vol. 18, pp. 90-95, 1896.

[40] J. Hermann, R. A. DiStasio, y A. Tkatchenko, «First-Principles Models for van der Waals Interactions in Molecules and Materials: Concepts, Theory, and Applications»,

*Chem. Rev.*, vol. 117, n.º 6, pp. 4714-4758, mar. 2017, doi: 10.1021/acs.chemrev.6b00446.

[41] J. N. Israelachvili, «Van der Waals forces in biological systems», *Quart. Rev. Biophys.*, vol. 6, n.º 4, pp. 341-387, nov. 1973, doi: 10.1017/S0033583500001566.

[42] A. Kruse y E. Dinjus, «Hot compressed water as reaction medium and reactant Properties and synthesis reactions», p. 19, 2007.

[43] R. E. Silva, «Propiedades Termodinámicas del Efecto Hidrofóbico en la Estabilidad Proteica», p. 9, 2015.

[44] H. Weingärtner y E. U. Franck, «Supercritical Water as a Solvent», *Angew. Chem. Int. Ed.*, vol. 44, n.º 18, pp. 2672-2692, abr. 2005, doi: 10.1002/anie.200462468.

[45] «reconocimiento molecular.qxd», *An. Quím.*, p. 9, 2007.

[46] C. Gálvez, «Reconocimiento y anotación de nombres de fármacos genéricos en la literatura biomédica», p. 20.

[47] T. Joshi *et al.*, «Chapter 4 - Recent advances on computational approach towards potential drug discovery against leishmaniasis», en *Pathogenesis, Treatment and Prevention of Leishmaniasis*, M. Samant y S. Chandra Pandey, Eds. Academic Press, 2021, pp. 63-84. doi: 10.1016/B978-0-12-822800-5.00009-3.

[48] «Understanding the Basics of QSAR for Applications in Pharmaceutical Sciences and Risk Assessment - 1st Edition». <https://www.elsevier.com/books/understanding-the-basics-of-qsar-for-applications-in-pharmaceutical-sciences-and-risk-assessment/roy/978-0-12-801505-6> (accedido 14 de diciembre de 2021).

[49] G. M. Shaikh, M. Murahari, S. Thakur, M. S. Kumar, y M. Yc, «Studies on ligand-based pharmacophore modeling approach in identifying potent future EGFR inhibitors», *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, vol. 112, p. 108114, may 2022, doi: 10.1016/j.jmgm.2021.108114.

[50] D. R. Koes y C. J. Camacho, «ZINCPharmer: pharmacophore search of the ZINC database», *Nucleic Acids Research*, vol. 40, n.º W1, pp. W409-W414, jul. 2012, doi: 10.1093/nar/gks378.

[51] G. R. Fleming y M. Cho, «CHROMOPHORE-SOLVENT DYNAMICS», *Annu. Rev. Phys. Chem.*, vol. 47, n.º 1, pp. 109-134, oct. 1996, doi: 10.1146/annurev.physchem.47.1.109.

[52] K. M. Abuamer, A. A. Maihub, M. M. El-Ajaily, A. M. Etoriki, M. M. Abou-Krishna, y M. A. Almagani, «The Role of Aromatic Schiff Bases in the Dyes Techniques», *IJOC*, vol. 04, n.º 01, pp. 7-15, 2014, doi: 10.4236/ijoc.2014.41002.

[53] Ghulam Shabir, Aamer Saeed & Pervaiz Ali Channar, «A Review on the Recent Trends in Synthetic Strategies and Applications of Xanthene Dyes», *Mini-Reviews in Organic Chemistry*, vol. 15, n.º 3, pp. 166-197, 2018, doi: 10.2174/1570193X14666170518130008.

[54] Eduardo Baraboglia, «Uso de la fluoresceína en la practica clínica veterinaria», *Revista Electrónica de Veterinaria*, vol. 10, n.º 3, pp. 1-10.

[55] S. Ishak *et al.*, «Experimental and computational studies of fluorene derivatives containing two identical quinoline and pyridine moieties», *Journal of Molecular Structure*, vol. 1253, p. 132174, abr. 2022, doi: 10.1016/j.molstruc.2021.132174.

[56] S. M. Derayea y D. M. Nagy, «Application of a xanthene dye, eosin Y, as spectroscopic probe in chemical and pharmaceutical analysis; a review», *Reviews in Analytical Chemistry*, vol. 37, n.º 3, sep. 2018, doi: 10.1515/revac-2017-0020.

[57] Zengze Chu, Chen Liu, Xinxin Zhang, «Synthesis and Application of a Star-Shaped, Conjugated Oligomer Containing a Spiro(Fluorene-9,9'-Xanthene) Core for Copper(I) Thiocyanate Based Perovskite Solar Cells», *JOURNAL OF MACROMOLECULAR SCIENCE, PART B*, pp. 1-13, 2021, doi: <https://doi.org/10.1080/00222348.2022.2052633>.

[58] I. Sorrentino *et al.*, «The laccase mediator system at carbon nanotubes for anthracene oxidation and femtomolar electrochemical biosensing», *Analyst*, vol. 147, n.º 5, pp. 897-904, 2022, doi: 10.1039/D1AN02091A.

[59] J. Li *et al.*, «Controllable Synthesis of Metal–Organic Frameworks Based on Anthracene Ligands for High-Sensitivity Fluorescence Sensing of Fe<sup>3+</sup>, Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub><sup>2-</sup>, and TNP», *Crystal Growth & Design*, vol. 22, n.º 5, pp. 2954-2963, may 2022, doi:



10.1021/acs.cgd.1c01412.

[60] A. de Morais *et al.*, «Synthesis and optical properties of a fluorene-benzothiadiazole anthracene copolymer», *Synthetic Metals*, vol. 283, p. 116970, ene. 2022, doi: 10.1016/j.synthmet.2021.116970.

[61] R. D. Combes y R. B. Haveland-Smith, «A review of the genotoxicity of food, drug and cosmetic colours and other azo, triphenylmethane and xanthene dyes», *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology*, vol. 98, n.º 2, pp. 101-243, mar. 1982, doi: 10.1016/0165-1110(82)90015-X.

[62] Wan-Jie Wei, Yu-Jing Zhong, Yu-Feng Feng, Lei Gao, Hai-Tao Tang, Ying-Ming Pan, Xian-Li Ma, Zu-Yu Mo, «Electrochemically Mediated Direct C(sp<sup>3</sup>)-H Sulfonation of Xanthene Derivatives», *Adv. Synth.Catal*, n.º 364, pp. 726-731, doi: doi.org/10.1002/adsc.202101289Adv. Synth.Catal.2022,364, 726–731© 2021 Wiley-VCHGmbH726WileyVCHMittwoch,09.02.20222204/ 231981[S.726/731]1.

[63] M. K. Imon, R. Islam, P. G. Karmaker, P. K. Roy, K.-I. Lee, y H. N. Roy, «A concise metal-free synthesis of xanthene derivatives mediated by achiral 2-aminophenol under solvent-free conditions», *Synthetic Communications*, pp. 1-12, mar. 2022, doi: 10.1080/00397911.2022.2047730.

[64] Carlos F. M. Silva, Diana C. G. A. Pinto, Pedro A. Fernandes, Artur M. S. Silva, «Evolution of Acridines and Xanthenes as a Core Structure for the Development of Antileishmanial Agents», *Pharmaceuticals*, vol. 15, n.º 148, ene. 2022, doi: https://doi.org/10.3390/ph15020148.

[65] Jiaying Wu, Zhenxiong Shi, Linlin Zhu, Jie Li, Xu Han, Man Xu, Shiping Hao, Yibo Fan, Tao Shao, Hua Bai, Bo Peng, Wenbo Hu, Xiaowang Liu, Chuanhao Yao, Lin Li, Wei Huang, «The Design and Bioimaging Applications of NIR Fluorescent Organic Dyes with High Brightness», *Adv. Optical Mater.*, vol. 10, n.º 8, pp. 1-23, feb. 2022, doi: https://doi.org/10.1002/adom.202102514.

[66] A. Turner, «Biosensors: then and now», *Trends in Biotechnology*, vol. 31, n.º 3, pp. 119-120, mar. 2013, doi: 10.1016/j.tibtech.2012.10.002.

[67] S. Upadhyay, A. Singh, R. Sinha, S. Omer, y K. Negi, «Colorimetric chemosensors for d-metal ions: A review in the past, present and future prospect», *Journal of Molecular Structure*, vol. 1193, pp. 89-102, oct. 2019, doi: 10.1016/j.molstruc.2019.05.007.

[68] F. Luque, «Frontiers in Computational Chemistry for Drug Discovery», *Molecules*, vol. 23, n.º 11, p. 2872, nov. 2018, doi: 10.3390/molecules23112872.

[69] William F. Polik, J. R. Schmidt, «WebMO: Web-based computational chemistry calculations in education and research», *WIREs Comput Mol Sci*, pp. 1-22, abr. 2021, doi: https://doi.org/10.1002/wcms.1554.

[70] M. Garofalo, G. Grazioso, A. Cavalli, y J. Sgrignani, «How Computational Chemistry and Drug Delivery Techniques Can Support the Development of New Anticancer Drugs», *Molecules*, vol. 25, n.º 7, p. 1756, abr. 2020, doi: 10.3390/molecules25071756.

[71] X.-Y. Meng, H.-X. Zhang, M. Mezei, y M. Cui, «Molecular Docking: A Powerful Approach for Structure-Based Drug Discovery», *CAD*, vol. 7, n.º 2, pp. 146-157, jun. 2011, doi: 10.2174/157340911795677602.

[72] F. Lopez-Vallejo *et al.*, «Integrating Virtual Screening and Combinatorial Chemistry for Accelerated Drug Discovery», *CCHTS*, vol. 14, n.º 6, pp. 475-487, jul. 2011, doi: 10.2174/138620711795767866.

[73] S.-Y. Huang y X. Zou, «Advances and Challenges in Protein-Ligand Docking», *IJMS*, vol. 11, n.º 8, pp. 3016-3034, ago. 2010, doi: 10.3390/ijms11083016.

[74] I. M. Kapetanovic, «Computer-aided drug discovery and development (CADDD): In silico-chemico-biological approach», *Chemico-Biological Interactions*, vol. 171, n.º 2, pp. 165-176, ene. 2008, doi: 10.1016/j.cbi.2006.12.006.

[75] E. Yuriev, M. Agostino, y P. A. Ramsland, «Challenges and advances in computational docking: 2009 in review», *J. Mol. Recognit.*, vol. 24, n.º 2, pp. 149-164, mar. 2011, doi: 10.1002/jmr.1077.

[76] S. F. Sousa, P. A. Fernandes, y M. J. Ramos, «Protein-ligand docking: Current status and future challenges», *Proteins*, vol. 65, n.º 1, pp. 15-26, jul. 2006, doi:

10.1002/prot.21082.

[77] Z. Zsoldos, D. Reid, A. Simon, S. B. Sadjad, y A. P. Johnson, «eHiTS: A new fast, exhaustive flexible ligand docking system», *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, vol. 26, n.º 1, pp. 198-212, jul. 2007, doi: 10.1016/j.jmgm.2006.06.002.

[78] B. Gorelik y A. Goldblum, «High quality binding modes in docking ligands to proteins: High Quality Binding Modes», *Proteins*, vol. 71, n.º 3, pp. 1373-1386, may 2008, doi: 10.1002/prot.21847.

[79] N. Foloppe y R. Hubbard, «Towards Predictive Ligand Design With Free-Energy Based Computational Methods?», *CMC*, vol. 13, n.º 29, pp. 3583-3608, dic. 2006, doi: 10.2174/092986706779026165.

[80] B. S. P. Bentham Science Publisher, «Scoring Functions for Protein-Ligand Docking», *CPPS*, vol. 7, n.º 5, pp. 407-420, oct. 2006, doi: 10.2174/138920306778559395.

[81] S.-Y. Huang, S. Z. Grinter, y X. Zou, «Scoring functions and their evaluation methods for protein–ligand docking: recent advances and future directions», *Phys. Chem. Chem. Phys.*, vol. 12, n.º 40, p. 12899, 2010, doi: 10.1039/c0cp00151a.

[82] P. Englebienne y N. Moitessier, «Docking Ligands into Flexible and Solvated Macromolecules. 5. Force-Field-Based Prediction of Binding Affinities of Ligands to Proteins», *J. Chem. Inf. Model.*, vol. 49, n.º 11, pp. 2564-2571, nov. 2009, doi: 10.1021/ci900251k.

[83] C. W. Murray, T. R. Auton, y M. D. Eldridge, «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», p. 18.

[84] M. D. Eldridge, C. W. Murray, T. R. Auton, G. V. Paolini, y R. P. Mee, «Empirical scoring functions: I. The development of a fast empirical scoring function to estimate the binding affinity of ligands in receptor complexes», p. 21.

[85] S.-Y. Huang y X. Zou, «An iterative knowledge-based scoring function to predict protein–ligand interactions: I. Derivation of interaction potentials», *J. Comput. Chem.*, vol. 27, n.º 15, pp. 1866-1875, nov. 2006, doi: 10.1002/jcc.20504.

[86] H. Gohlke, M. Hendlich, y G. Klebe, «Knowledge-based scoring function to predict protein-ligand interactions», *Journal of Molecular Biology*, vol. 295, n.º 2, pp. 337-356, ene. 2000, doi: 10.1006/jmbi.1999.3371.

[87] L. Ferreira, R. dos Santos, G. Oliva, y A. Andricopulo, «Molecular Docking and Structure-Based Drug Design Strategies», *Molecules*, vol. 20, n.º 7, pp. 13384-13421, jul. 2015, doi: 10.3390/molecules200713384.

[88] William J. Huggins, Bryan A. O’Gorman, Nicholas C. Rubin, David R. Reichman, Ryan Babbush & Joonho Lee, «Unbiasing fermionic quantum Monte Carlo with a quantum computer», vol. 603, pp. 416-420, mar. 2022, doi: <https://doi.org/10.1038/s41586-021-04351-z>.

[89] A. K. Rappe, C. J. Casewit, K. S. Colwell, W. A. Goddard, y W. M. Skiff, «UFF, a full periodic table force field for molecular mechanics and molecular dynamics simulations», *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 114, n.º 25, pp. 10024-10035, dic. 1992, doi: 10.1021/ja00051a040.

[90] C. G. Wermuth, C. R. Ganellin, P. Lindberg, y L. A. Mitscher, «Glossary of terms used in medicinal chemistry (IUPAC Recommendations 1998)», *Pure and Applied Chemistry*, vol. 70, n.º 5, pp. 1129-1143, ene. 1998, doi: 10.1351/pac199870051129.

[91] C. J. Cortés-García, L. Chacón-García, J. E. Mejía-Benavides, y E. Díaz-Cervantes, «Tackling the SARS-CoV-2 main protease using hybrid derivatives of 1,5-disubstituted tetrazole-1,2,3-triazoles: an in silico assay», *PeerJ Physical Chemistry*, vol. 2, p. e10, jun. 2020, doi: 10.7717/peerj-pchem.10.

[92] A. Schüller, V. Hähnke, y G. Schneider, «SmiLib v2.0: A Java-Based Tool for Rapid Combinatorial Library Enumeration», *QSAR Comb. Sci.*, vol. 26, n.º 3, pp. 407-410, mar. 2007, doi: 10.1002/qsar.200630101.