

Aproximaciones computacionales en el diseño de fármacos derivados de la diarilurea basados en indazol como anticancerígenos

FACULTAD DE FARMACIA, UNIVERSIDAD DE SEVILLA.

TRABAJO FIN DE GRADO

GRADO EN FARMACIA

Autora: Arián Iglesias Rubio

Sevilla, junio de 2018

Departamento de Química Física

Tutor: Antonio M. Márquez Cruz

TFG de carácter bibliográfico

1. RESUMEN

En el último siglo se ha producido un gran avance en cuanto a medicina se refiere. El conocimiento fisiopatológico de las enfermedades abre nuevos caminos hacia la cura de las mismas, obligando a los científicos a optimizar los procesos de diseño de futuros fármacos. Todo el proceso en sí ha sufrido grandes cambios, teniendo que destacar los métodos computacionales como parte indispensable para dar este salto. Una vez estudiada la patología y conocidas al detalle las dianas, se intenta diseñar una molécula que encaje como una pieza de puzle, siendo aquí donde juega un papel importante el desarrollo de las aproximaciones computacionales. Los tratamientos contra el cáncer, enfermedad que ocupa el tercer puesto como causa de muerte a nivel mundial, están en continuo avance. Los nuevos antineoplásicos deben tener en cuenta las características del tumor, incluso a nivel genético, consiguiendo maximizar su eficacia y minimizar los efectos secundarios. Una vez realizadas las aproximaciones computacionales, los ensayos preclínicos son el siguiente paso en la búsqueda del fármaco ideal. Como ejemplo y gracias a los métodos computacionales están las mejoras sobre el principio activo sorafenib, para tratamientos contra el carcinoma hepático y su posible ampliación de uso contra el cáncer de colon. Los procesos tumorales y las metástasis en órganos vitales como el hígado, cada vez son más complicados de controlar. Destaca su gravedad en casos de recidivas, debido a la resistencia que generan las propias células tumorales. Todo ello, nos permite afirmar que los métodos computacionales están siendo esenciales para las nuevas investigaciones sobre fármacos que puedan combatirlos con mayor eficacia y menos efectos secundarios.

Palabras clave: métodos computacionales, sorafenib, carcinoma hepático y cáncer de colon.

2. ÍNDICE

1. RESUMEN	3
2. ÍNDICE	5
3. INTRODUCCIÓN.....	7
3.1. El proceso de descubrimiento de fármacos	7
3.2. Métodos modernos de diseño de fármacos.....	8
3.3. Dianas terapéuticas en el tratamiento del cáncer.....	12
3.4. Carcinoma hepático y cáncer de colon.....	13
3.5. Fármacos similares al Sorafenib	16
3.6. Justificación de la revisión	18
4. OBJETIVOS DE LA REVISIÓN	19
5. METODOLOGÍA	21
5.1. Bases de datos.....	21
5.2. Nombres claves	21
5.3. Optimización de la búsqueda.....	21
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	23
6.1. Nuevos tratamientos en el carcinoma hepático.....	23
6.2. Nuevos tratamientos para el cáncer de colon.....	28
6.3. Otros tratamientos basados en indazol.....	29
6.4. Objetivos y fundamentos del funcionamiento de estos fármacos	30
6.5. Nuevas dianas terapéuticas y terapias innovadoras contra el cáncer.....	30
7. CONCLUSIONES	35
8. BIBLIOGRAFÍA.....	36

3. INTRODUCCIÓN

3.1. El proceso de descubrimiento de fármacos

En el siglo pasado, el descubrimiento de un nuevo fármaco o cabeza de serie para llevar a cabo diferentes síntesis, era un proceso largo y costoso, a menos que fuese accidentalmente y diera buenos resultados de manera empírica, como ocurrió en 1928 con la penicilina. No obstante, pronto comienza a aflorar cierta inquietud y curiosidad por el diseño de nuevas moléculas, basándose en los conocimientos que ya se tenían de algunas reacciones químicas. La base de conocimiento con la que se partía, las técnicas y los materiales, eran los factores limitantes. Los datos científicos de los que se disponía se ceñían a libros o apuntes sobre hipótesis de algunos experimentos realizados, apenas compartidos como una fuente de información común en el mundo científico (Campbell y cols., 2018).

Los métodos de caracterización, tras obtener una molécula o compuesto del cual se intuía su estructura, se ha ido perfeccionando con el paso de los años. Estos métodos se basaban, principalmente, en la purificación del compuesto tras varias recristalizaciones hasta llegar a su punto de fusión deseado. El material que se utilizaba también era bastante rudimentario y generalmente todo se realizaba de manera manual, motivo por el cual se invertía mucho tiempo y se necesitaba personal cualificado. Como avance destacable, a mediados del siglo XX, comenzó el uso de la RMN (resonancia magnética nuclear) para estudiar la estructura molecular; la cromatografía de capa fina para separar las mezclas según la polaridad de los componentes y el microanálisis, entre otros métodos de investigación (Harner y cols., 2017),

Cuando comenzó el uso de la difracción de rayos X en la síntesis química, se dio un gran paso para el establecimiento de relaciones entre la estructura y la actividad del fármaco (métodos SAR - structure activity relation). Con el desarrollo de los métodos SAR, comenzaron a relacionarse las estructuras de las moléculas sintetizadas, incluso a nivel atómico y con cierta idea de su estereoquímica, con su actividad. De esta forma, se estableció la idea de diseñar las moléculas, y en base al estudio de las dianas terapéuticas era posible y algo menos complejo cuando se relacionaba la molécula que se había sintetizado con las posibles interacciones de la diana. Anteriormente, se comparaba el fármaco con otros de mecanismos conocidos o se intuía una acción sobre una enfermedad específica demostrada de forma empírica, pero no quedaba muy clara su interacción a nivel molecular o atómico, ya que se desconocía su estructura. Esto ocurrió con ciertas hormonas como la insulina o las esteroideas (producidas por la corteza suprarrenal) de las cuales se conocía su efecto pero no su estructura, hasta que

llegó la difracción de rayos X en 1932 (motivo de concesión de un nobel en fisiología). Una vez se conoció su estructura, y gracias a los conocimientos de bioquímica que se tenían, se inició el estudio que relacionaba su posible mecanismo para desarrollar nuevas soluciones a enfermedades cuya cura se desconocía (Lounnas y cols., 2013).

Cabe destacar que actualmente, se siguen usando algunas reacciones de síntesis principales o cabezas de serie que se utilizaban hace décadas. No obstante, la llegada de los sistemas informáticos, que permitió recoger y compartir toda la información de carácter científico, abrió una nueva oportunidad al mundo del diseño y descubrimiento de fármacos. Esto agilizó los métodos de búsqueda y comparación a la hora del diseño racional de fármacos. Los algoritmos que se creaban de manera simultánea, gracias a una gran base de datos que ayudaban a llevar a cabo el estudio, permitía reducir el tiempo en esta fase de búsqueda. Lo mismo ocurre con los programas que comparan miles de moléculas a la vez y buscan las de mejores características para sintetizarlas, optimizando así el proceso de diseño de fármacos. Gracias a lo anterior, se consigue obtener más información sobre la molécula, antes de realizar pruebas preclínicas o clínicas con seres vivos, como la posible toxicidad o sus características ADME (absorción, distribución, metabolismo y excreción) (Mandal y cols., 2009).

3.2. Métodos modernos de diseño de fármacos

Con la nueva era científica, provista de un sinfín de nuevos materiales, se establecieron los sistemas computarizados como base del proceso, capaces de combinar varias técnicas a la vez y de comparar miles de moléculas hasta conseguir unas que cubran los requisitos que se precisan. Con todos los avances conseguidos en el tipo de maquinaria para análisis y síntesis de nuevos compuestos o derivados, se ha logrado abrir un camino más completo y rápido hasta la comercialización. Además, todo ello ha contribuido para que se haya producido un gran cambio referente al descubrimiento de los fármacos, y no sólo se descubren, sino que se buscan y diseñan para un objetivo claro, un "target". Al encontrar la clave para comenzar a optimizar los procesos y diseñar nuevos compuestos más específicos, con mejor relación coste/eficiencia y seguros, los científicos plantearon nuevos métodos que debían estar basados en la idea de las técnicas SBDD (structure-based drug design). Con ello consiguieron una optimización en el proceso de descubrimiento de un cabeza de serie e información específica, relacionada con posibles cambios en su estructura para mejorar sus características ADME, conservando la misma afinidad y selectividad. Los nuevos métodos de búsqueda o descubrimiento de fármacos se basan en (Lounnas y cols., 2013):

- Técnicas HTS (high throughput screening) que identifican el cabeza de serie, cómo llega a su diana terapéutica y cómo se elimina.
- Los resultados obtenidos, pueden complementarse mediante los métodos VLS (virtual ligand screening), un sistema que filtra los compuestos con los que se van a realizar ensayos en base a sus propiedades moleculares.
- Docking o acoplamiento molecular, se basa en conocer cuál es la conformación más adecuada de la molécula cuando está unida a su diana terapéutica para poder diseñar una molécula con estructura muy similar y mejorar la unión al receptor o diana. Compara y busca dentro de una biblioteca entera de ellas.

En el proceso de identificación de la diana, no sólo se investiga su estructura y caracterización molecular, sino también su entorno, ya que puede verse modificado debido a la enfermedad o la propia microbiota. En este proceso es fundamental el uso de QSAR (quantitative structure activity relation) para medir también a nivel cuantitativo la relación de su estructura con la actividad. Los métodos computacionales son una herramienta necesaria para optimizar este paso y las moléculas candidatas (Katsila y cols., 2016). También se suelen utilizar aproximaciones matemáticas, en base a modelos estadísticos como BRPDT (bayesian ranking prediction of drug target interactions) basado en matrices de factorización, como herramienta para predecir y calcular la probabilidad de la interacción entre el fármaco diseñado y su diana (Peska y cols., 2017).

La quimioinformática es actualmente uno de los pilares en el diseño de fármacos, ya que hay programas que ofrecen la oportunidad de utilizar sus métodos como base de datos de experimentación y simulación, basándose en bibliotecas software. También permite realizar predicciones de datos fisicoquímicos, sobre la estructura e incluso espectroscópicos, puesto que cuenta con una gran biblioteca bien documentada. Se puede indagar sobre características de las diferentes estructuras y sus similitudes a otras moléculas ya conocidas. Forma parte de los procesos de optimización de un líder, HTS, ADME y diseño del compuesto (Firdaus y cols., 2012). Los métodos computacionales o CADD (computer-aided drug design) que se utilizan actualmente en el diseño de fármacos se recogen en la Figura 1.

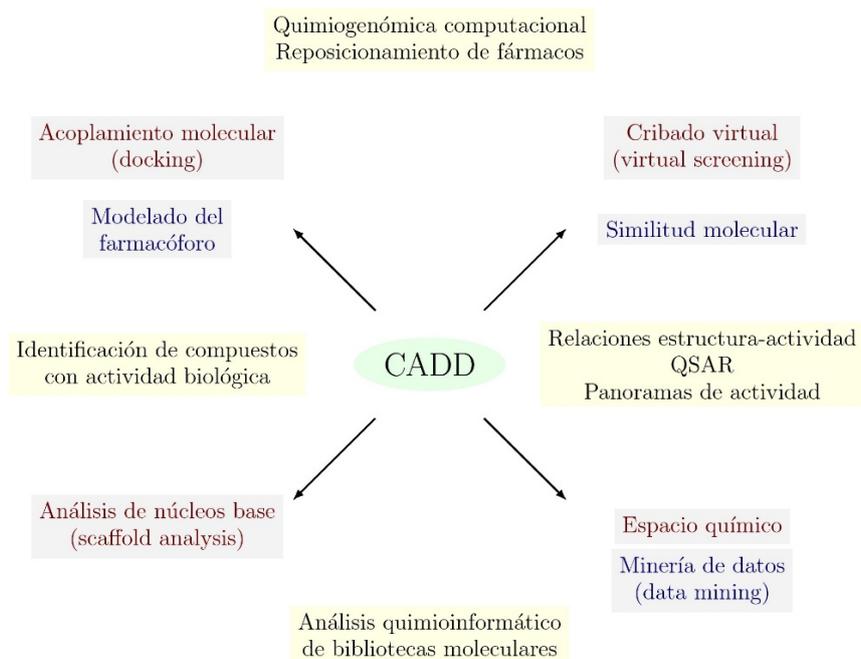


Figura 1. Esquema de los métodos computacionales en el diseño de fármacos (adaptado de José L. Medina-Franco y cols., 2015)

En cuanto al descubrimiento y desarrollo de fármacos, se pueden seguir varias estrategias. Si se descubre un compuesto activo, se elige ese como candidato potencial de la investigación; y si surge de una idea, se realizan propuestas agrupadas por temas, generando modelos de agregación por grupos y características. Finalmente se realiza una selección basada en parámetros críticos. La diferencia entre ambos procesos se hace más grande a medida que la complejidad de la diana terapéutica o target aumenta (Eastgate y cols., 2017).

El motivo principal por el que se desarrolla un nuevo fármaco es que los actuales están en desuso o ya no funcionan ante la patología para la que estaba indicada. Para establecer unas pautas claras en el desarrollo del nuevo fármaco, se siguen cinco procesos principales: 1) Identificación y validación de la diana terapéutica. 2) Búsqueda y optimización de un compuesto líder para ella. 3) Realización de un perfil de características farmacológicas en modelos animales. 4) Evaluación de la seguridad del compuesto elegido. 5) Evaluación a nivel clínico con pacientes humanos (Cunha y cols. I, 2014).

Algunas de las moléculas diseñadas por métodos computacionales puede que empíricamente no lleguen a adaptar su conformación a la hora de interactuar con la diana. Por ello, se verifica su estructura para que sea análoga a su diana y encaje teniendo en cuenta los cambios que pueda sufrir, gracias a controles conformacionales basados en SBDD. También se diseñan unos ligandos que puedan modificar su configuración fácilmente, tanto cuando la molécula está libre, como cuando esté unida a su diana, para facilitar sus cambios conformacionales, si éstos son necesarios (Zheng y cols., 2017).

Las técnicas de difracción de rayos X y RMN proporcionan amplia información sobre las diferentes conformaciones de la molécula, su dinámica y a nivel atómico. Sus objetivos fundamentales son identificar las propiedades estructurales del ligando libre o unido a su diana (realizando un screening cualitativo estructural) y facilitar durante la síntesis la manipulación del compuesto en base a sus características farmacológicas. En la actualidad, el RMN ha avanzado mucho. El uso de isótopos como marcadores ha permitido un cambio total a nivel biológico. Los tipos de RMN actuales son: 1) *espectroscopia monodimensional* (sólo en un plano) basado en medidas con ^1H (número de H y tipo de unión) y de ^{13}C (desplazamiento químico de los grupos funcionales); 2) *espectroscopia bidimensional* donde se estudia la relación entre los protones y el tipo de unión; 3) *CW* (continuous wave) de onda continua y los *multidimensionales* (permite observar las uniones entre los átomos en sus respectivos planos del espacio). Su uso en “fragment based screening” tiene dos objetivos: estudiar el ligando midiendo sus parámetros a nivel físico y estudiar la diana viendo si hay interacciones o cambios macromoleculares (Harner y cols. 2017).

Las estrategias para la síntesis de fármacos cuya complejidad es elevada, se denominan de “innovación disruptiva” y utilizan técnicas que proporcionan una alta eficiencia, desplazando las que están basadas en rutas de síntesis principales ya conocidas. Cuando se encuentra un cabeza de serie, se programa su síntesis química para estudiar la nueva ruta a seguir que proporcione mayor eficiencia, eficacia, seguridad y que sea más económica. Con esta estrategia se consigue aumentar la complejidad del compuesto sin disminuir su potencial, selectividad y actividad (Eastgate y cols., 2017).

El estudio “ligandomics”, es un nuevo método computacional (High throughput technology) basado en el fundamento de la proteómica, pero analizando al detalle los ligandos upregulation (cuya unión al receptor produce una enfermedad). Estudia los perfiles ligando-receptor (cell binding ligands) endógenos de las enfermedades y cómo esa unión ha terminado desencadenando la enfermedad. El objetivo de este estudio es el “drug target discovery” o diseño de fármacos análogos a ese ligando, para que compitan o bloqueen la diana evitando el avance de la patología. Su uso es útil en la búsqueda de fármacos para terapias dirigidas, como las utilizadas en tratamientos contra el cáncer o de tipo neurodegenerativo (Li y cols., 2018).

Los actuales procesos de síntesis de los principales tratamientos contra el cáncer utilizan una amplia gama de métodos computacionales (Figura 2) ya que deben asegurarse de cubrir todas las expectativas puestas en ellos. Además, tras el descubrimiento de varios compuestos que fueron capaces de actuar sobre varias dianas a la vez, la síntesis de compuestos análogos a ellos está en auge.

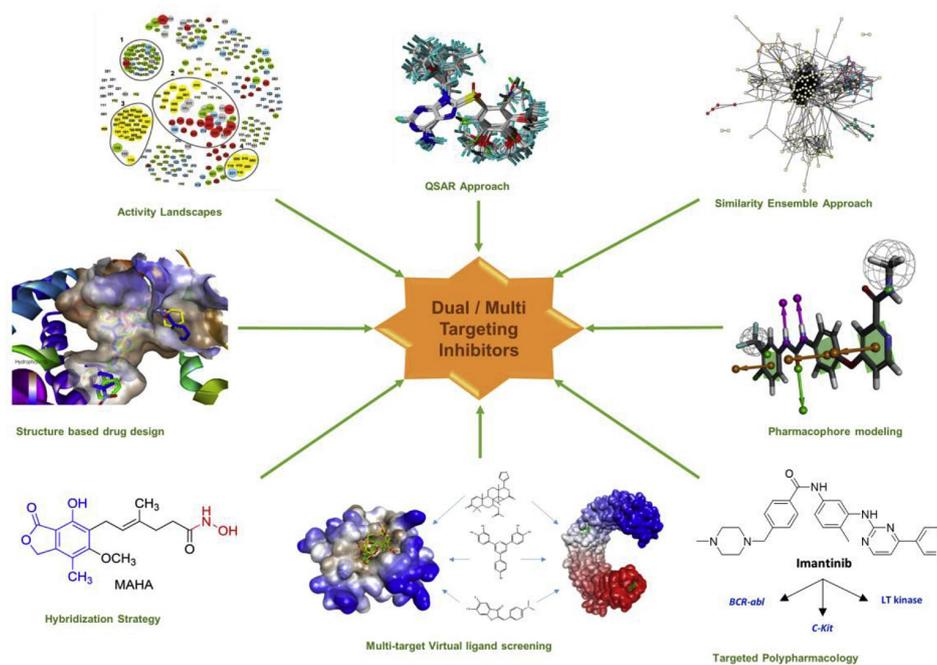


Figura 2. Métodos más utilizados en el diseño de fármacos con diversas dianas (Manjunathaiah Raghavendra y cols., 2017)

3.3. Dianas terapéuticas en el tratamiento del cáncer

Una diana terapéutica es una biomolécula que desempeña una función esencial en una enfermedad, en este caso, se estudiarán las del cáncer en general y las específicas de las patologías centrales de esta revisión. Entre ellas se encuentran: receptores de membrana, enzimas, canales iónicos y el ADN o ARN. Con los grandes avances en investigación de estructuras moleculares y atómicas de las dianas, la búsqueda de moléculas como ligando para una diana específica es muy heterogénea, teniendo como nuevo objetivo llegar a más de una y así tratar múltiples patologías con un solo fármaco, es el llamado “dual/multi-targeting”. Así, en el caso de los nuevos fármacos contra el cáncer, se puede conseguir el bloqueo por sinergismo de los diferentes mecanismos que conllevan los procesos tumorales, de una o varias patologías, al actuar sobre varias dianas simultáneamente. El sorafenib fue uno de los primeros en cumplir estas características, actuando sobre varias quinasas oncogénicas a la vez (Manjunathaiah Raghavendra y cols., 2017).

La gran demanda de información que se produce actualmente sobre las dianas o targets, ha llevado a muchos investigadores a crear varias plataformas como base de datos donde recoger la información ya existente y todos los avances realizados en investigación. Esto sirve de base para próximos estudios de la estructura, la acción o respuesta y posibles interacciones de nuevos compuestos sobre dichas dianas. Una de las más nuevas es “Drug target common”

(DTC), una gran base de datos y herramienta para gestionar las búsquedas sobre la bioactividad, la estandarización y el efecto de todas las dianas conocidas o incluso las que están en proceso de investigación, puesto que se nutre de diversas fuentes de información primaria como los artículos ya publicados u otras bases de datos reconocidas dentro del ámbito de la investigación. Esta plataforma tiene como objetivo que los usuarios busquen y aporten información, también con datos obtenidos en ensayos. Gracias a ella, se favorece y amplía la investigación de nuevos fármacos e incluso se pueden encontrar nuevas interacciones con los ya existentes (Tang y cols., 2018).

Dentro de la investigación sobre nuevas terapias contra el cáncer, destaca en las terapias dirigidas el objetivo de evitar o bloquear el proceso de angiogénesis. La angiogénesis en casos de cáncer, es la formación de nuevos vasos sanguíneos a partir de anteriores, que tienen como objetivo irrigar a las células tumorales “alimentando” así la masa tumoral. Se trata de uno de los procesos más importantes en el crecimiento y desarrollo de las células tumorales, de ello depende su supervivencia y avance para una posible metástasis. Es por ello que se considera de suma importancia la angiogénesis, desde el descubrimiento de este mecanismo celular, como una diana terapéutica clave contra el cáncer. Cualquier receptor, enzima o factor implicado en este proceso de nueva vascularización, será un target directo para que se produzca la inhibición (Wang y cols., 2016). En esta revisión nos centraremos en varios de los receptores o quinasas de células presentes en carcinoma hepático y las células de la línea HCT-116 en procesos de tumoración en cáncer de colon.

3.4. Carcinoma hepático y cáncer de colon

El carcinoma hepático, es un tumor de tipo maligno en los tejidos epiteliales del hígado, y está considerado el cáncer más común a nivel de este órgano vital. Actualmente se encuentra en el tercer puesto como causa de muerte debido a un cáncer, a nivel mundial (MedlinePlus, 2018).

A pesar de que el cáncer puede tener una gran variedad de factores de riesgo: el medio, una infección vírica previa, la alimentación o factores genéticos, en este caso se caracteriza por un elevado número de pacientes que previamente han padecido un daño prolongado en los hepatocitos o múltiples procesos de cicatrización que suele derivar de enfermedades como una cirrosis hepática o daños producidos por la inflamación en las hepatitis víricas. Esto lo diferencia de la metástasis en el hígado, producida por células con un crecimiento no controlado cuyo origen es diverso y no comenzó en este órgano (Grandhi y cols., 2016). De su epidemiología destaca, además de ser el sexto cáncer más común y tercero con más índice de

mortalidad, que China se encuentra a la cabeza como el país con mayor prevalencia de esta enfermedad (Chu y cols., 2017). Este cáncer, normalmente no se suele dividir en estadios como ocurre en otros, sino que se rige por una clasificación basada en las características de la masa tumoral. Dentro de esta clasificación, los tratamientos más significativos son:

- *Hepatectomía*, basada en la extracción del carcinoma o masa tumoral, habiéndose asegurado que los bordes son redondos y bien definidos para no dejar parte de células sin extraer. En el caso de que no esté sano y no se pueda asegurar la viabilidad del órgano, se opta por el trasplante.
- *Ablación por radiofrecuencia*, que consiste en aplicar calor a las células tumorales directamente.
- *Quimioembolización*, se trata de administrar el antineoplásico, libre o introducido en microesferas, directamente por la arteria hepática. Con ello se consiguen dos efectos: por un lado el efecto del antineoplásico directo en las células del hígado y por otro una pequeña hipoxia producida por taponar temporalmente la irrigación de sangre sobre el hígado mientras se administra.
- *Radioembolización*, consiste en aplicar una serie de microesferas con radioactividad sobre la arteria, produciendo un atasco localizado en los vasos adyacentes al tumor y les radia directamente.
- *Terapia dirigida*, se caracteriza por actuar sobre genes o proteínas específicas expresadas por las células tumorales, bloqueando su crecimiento y su diseminación (Armengol y cols., 2017).

En la Tabla 1 encontramos una breve explicación sobre los diferentes tipos de tumor en base a sus características de carcinoma hepático y su tratamiento:

Tabla 1. Clasificación de los tipos de carcinoma hepático y su tratamiento.

TIPO DE TUMOR	CARACTERÍSTICAS	TRATAMIENTO
RESECABLE	F. Temprana: hígado sano F. Temprana: hígado dañado	Hepatectomía Trasplante de hígado
NO RESECABLE	No ha alcanzado los ganglios, pero su extracción es difícil. 3 o más tumores de un tamaño pequeño <5cm.	Ablación o embolización del tumor. Terapia dirigida, quimioterapia o radioterapia.
INOPERABLE	Su extracción es difícil por cirugía ya que está disperso, no localizado.	Terapia dirigida, quimioterapia o radioterapia.
AVANZADO	Hay metástasis en ganglios y órganos varios.	Terapia dirigida para retrasar o reducir los efectos: sorafenib y si falla regorafenib (FDA, 2017).

A pesar de los programas de detección precoz o cribados que se realizan, en las poblaciones de riesgo que han sufrido patologías crónicas previas, se suele diagnosticar en etapas avanzadas. Si se diagnostica en etapas tempranas, cuando el tumor se puede extraer sin problema o se opta por el trasplante, el pronóstico puede ser muy favorable. No obstante, se viene comprobando que cuando la enfermedad está avanzada, la mayoría de los afectados no suele tener una buena respuesta ante los tratamientos. Por ello, los fármacos para esta patología se encuentran en continuo proceso de investigación a base de ensayos clínicos. Como este tipo de carcinomas no suele tener buen pronóstico, los tratamientos pretenden prolongar y aportar calidad de vida a los pacientes, al menos unos meses o como máximo un año. Actualmente, los antineoplásicos de elección son la doxorrubicina y el sorafenib, solos o en combinación con otros (Hollebecque y cols., 2015) y también uno de los últimos que se están aplicando es el regorafenib, aprobado por la FDA en 2017 (FDA, 2018).

El cáncer de colon es una patología que puede afectar tanto a la zona del colon, como a su zona final, llamada recto. Su incidencia varía según la raza o el sexo, habiendo más incidencia en razas africanas y sexo masculino (CDC, 2018). Su origen puede ser diverso, pero generalmente comienza con pequeños pólipos de tipo benigno en las zonas mencionadas, que si no se detectan a tiempo y son extirpados (etapa I), derivan en una tumoración maligna (MedlinePlus, 2018). Habitualmente, en el estudio de nuevas terapias contra el cáncer, se intenta, que el empleo del fármaco se pueda ampliar a varios tipos. Puesto que la metástasis más común de este cáncer se proyecta hacia el hígado, las líneas de investigación son paralelas, dado que se toman como referencia las similitudes en cuanto a mecanismos que tengan sus células. Tomando como referencia las peores perspectivas, podemos considerar que hay distintos tipos de intervenciones:

- En una etapa inicial, si no se extrae el pólipo del todo o puede haber células de dudosa oncogenicidad, se suele realizar una extirpación parcial del colon.
- En la etapa II, como puede haber llegado a los ganglios linfáticos, se opta por cirugía en primer lugar y tratamiento quimioterapéutico si hay peligro de recidivas (combinando 5-FU, capecitabina, leucovorín u oxaliplatino).
- En etapas más avanzadas pero sin metástasis (etapa IV) se opta por el primer método de cirugía y elección entre varios regímenes (combinación para aprovechar el sinergismo de varios antineoplásicos): FOLFOX (5-FU, leucovorín, y oxaliplatino), CAPEOX (capecitabina y oxaliplatino) o FOLFIRI (5-Fluorouracilo e irinotecan). En esta etapa también se combinan con posterior radioterapia (American Cancer Society, 2018).

3.5. Fármacos similares al Sorafenib

El sorafenib pertenece al grupo de antineoplásicos considerados como terapia dirigida contra el cáncer, por vía oral, indicado principalmente para el tratamiento del carcinoma hepático. Sus combinaciones con otros fármacos o algunos de sus derivados han ampliado su uso a otras patologías de tipo oncológico, entre ellas el cáncer de colon con células de la línea HCT-116 (Chu y cols., 2017).

Su mecanismo principal es unirse al receptor e inhibir varias tirosin-quinazas (TK) encargadas de la señalización celular, evitando su fosforilación para que no desencadene la activación del proceso. Como dianas principales tiene: “vascular endothelial growing factor receptor 1” (VEGFR1); “plateled derivated growth factor receptor” (PDGFR); “stem cell grow factor” (SCGF) también conocido como proto-oncogen (c-Kit), principales mediadores de la angiogénesis. El sorafenib también inhibe a la quinasa Raf (en la cascada de señalización de las quinazas Ras/Raf/MEK/ERK, que dan lugar a la proliferación celular) (Hollebecque et al, 2014). Su actividad principal es impedir la proliferación de las células tumorales, la angiogénesis y promueve la apoptosis de estas células como se aprecia en el dibujo esquemático de la Figura 3 (Zhu y cols., 2017).

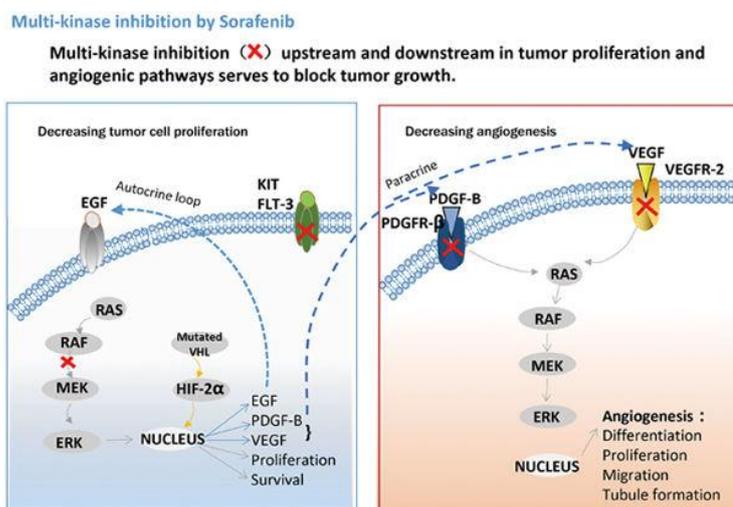


Figura 3. Mecanismo de actuación del sorafenib (Zhu y cols., 2017)

Su uso se ha restringido debido, en parte, al peligro al que está expuesto el paciente por sus efectos secundarios, como la mielosupresión, neutropenia, linfopenia, pérdida de peso junto a otros típicos de la quimioterapia. Dentro de los más graves están, la cardiotoxicidad y el daño renal. También, se ha utilizado poco en carcinomas hepáticos más avanzados al observarse, en repetidas ocasiones, resistencias por parte de las células tumorales que buscan mecanismos alternativos para evadir su efecto, por lo que origina un déficit de eficacia

en estos pacientes. Este fallo, como antineoplásico estrella en el carcinoma hepático, dio pie a investigar las posibles modificaciones en esta molécula o análogos a ella, para mejorar características como su actividad o disminuir su toxicidad. De este modo se podrían potenciar los efectos beneficiosos de esta molécula e incluso ampliar su uso en otras terapias oncológicas (Chu y cols., 2014).

Tras este descubrimiento, otros compuestos como dovitinib, imatinib y nilotinib, que también formaban parte de terapias dirigidas, empezaron a ser investigados y demostraron clínicamente ser análogos respecto a la actividad inhibitoria sobre múltiples quinasas: B-RAF como una de las tres isoformas de Raf, ABL, c-KIT y p38 (Manjunathaiah Raghavendra y cols., 2017). Otro compuesto con características similares es nintedanib, uno de los últimos que han demostrado, en los primeros ensayos clínicos, cierta mejora en la farmacocinética y seguridad frente al sorafenib. Su eficacia ha sido comparada en un estudio poblacional, que incluía tanto pacientes europeos como asiáticos con carcinoma hepático (con uno o más tumores irresecables y visibles) sin tratamiento previo, en ensayos clínicos de fase III. Como conclusión se intuye que su efecto en este tipo de tumores se debe a que se metaboliza principalmente en el hígado y en él hace su efecto directo localizado (Palmer y cols., 2018).

Algunos derivados del sorafenib aún están en proceso de ser validados, ya que sólo se han alcanzado con éxito sus ensayos preclínicos in vitro y algunos in vivo. Un nuevo compuesto análogo al sorafenib, en el que se sustituyó su grupo funcional de urea por una chalcona [N-metil (picolinamida-4-oxi) chalcona], dio como resultado que su citotoxicidad sobre células tumorales era mayor, inhibiendo a VEGFR. También se consiguió una alta actividad con una dosis menor. Las células utilizadas principalmente para este ensayo in vitro fueron extraídas de un tejido con carcinoma, del hígado (HepG2) (Wang y cols., 2016).

Otra de las últimas moléculas derivadas de sorafenib, en la que se introdujo un grupo tioéter y una nicotinamida, demostró de nuevo una mayor actividad citotóxica y anti-angiogénica en células HCT-116 in vitro frente a las tratadas sólo con sorafenib. La idea del diseño de esta molécula surgió tras el descubrimiento de varias mutaciones en una de las isoformas de Raf, como era B-Raf y su mutación B-Raf^{v600E}, común en células tumorales en cáncer de colon y melanomas. La afinidad por esta mutación fue mayor gracias a la inclusión de la nicotinamida en la molécula (Sun y cols., 2018). En ambos ensayos in vitro, cabe destacar que la IC₅₀ (concentración inhibitoria sobre células para parar su crecimiento y hacer que su población disminuya un 50%) disminuyó significativamente frente a la necesaria de sorafenib para conseguir el mismo efecto.

3.6. Justificación de la revisión

El problema de síntesis de nuevos fármacos se está resolviendo gracias a la rapidez y seguridad que aportan los métodos computacionales utilizados durante el proceso. En patologías como el cáncer es muy importante sacar al mercado nuevas moléculas específicas como sorafenib, pero que aporten nuevos puntos de vista respecto a la síntesis de sus derivados. Los compuestos derivados de diarilurea basados en indazol están dando lugar a una serie de innovadores compuestos anticancerígenos, aprovechando el mecanismo del sorafenib. Este compuesto está aportando muy buenos resultados in vitro en células del carcinoma hepático y del cáncer de colon.

4. OBJETIVOS DE LA REVISIÓN

Como objetivos fundamentales de esta revisión bibliográfica, se han tenido en cuenta todos los componentes y pasos que engloban el proceso de síntesis de nuevos fármacos. Desde el inicio del diseño o descubrimiento de un fármaco e incluso modificación de uno existente, en base al estudio previo de la patología en sí y la diana terapéutica o target, hasta su síntesis. Los innovadores métodos computacionales que actualmente se utilizan en todo el proceso, para obtener una mayor optimización que proporcione un ahorro de coste y tiempo, además de asegurar una mayor efectividad y seguridad del compuesto obtenido. Realizando, también, una pequeña vista atrás de todo este proceso para ver cómo en poco tiempo los materiales y métodos utilizados han mejorado. Cada vez más avanzados, dando un mayor éxito en las síntesis de nuevos fármacos, tan importantes hoy en día, como los antineoplásicos.

Además de comentar los nuevos avances sobre las investigaciones en nuevas dianas terapéuticas, también nos centraremos en el estudio de las patologías principales de esta revisión como son el carcinoma hepático y cáncer de colon. Teniendo en cuenta las características de cada cáncer mencionado, se realiza una explicación detallada de la patología para definir los objetivos a la hora de diseñar nuevos fármacos en este ámbito, ya que, por ser patologías muy heterogéneas, se intenta buscar puntos en común o formas de inhibir varios mecanismos para controlar el crecimiento descontrolado y proliferación de las células tumorales.

También se hace una recopilación de las nuevas terapias más innovadoras tanto en las patologías principales de la revisión como en terapias contra el cáncer de manera general. Quedan atrás las terapias basadas sólo en el uso de un solo citostático, dando entrada a nuevos conceptos para el tratamiento del cáncer, teniendo como objetivos fundamentales la seguridad del paciente, evitando o disminuyendo la gravedad de los efectos secundarios que se experimentan tras su administración. De esta forma se asegura un buen pronóstico, o al menos, aumentar la esperanza de vida de pacientes que se encuentran en etapas avanzadas de la enfermedad.

5. METODOLOGÍA

5.1. Bases de datos

Las bases de datos consultadas para la realización de esta revisión bibliográfica han sido: buscador en la página web de PubMed donde se recoge, como fuente primaria, una gran cantidad de artículos publicados o de revisión con contenido biomédico proporcionado por la Biblioteca Nacional de Medicina de los Estados Unidos; las consultas referentes a patologías concretas citadas anteriormente se han realizado también en la base de datos biomédica MedLine Plus. Respecto a los tratamientos actuales, se ha ampliado información desde la página web oficial de American Cancer Society y la agencia gubernamental FDA, ambas como fuente secundaria, desde las cuales se accedió a los artículos originales donde se recogían estas definiciones. Para datos epidemiológicos, se consultó la web del centro para el control y prevención de enfermedades CDC. Por último, se ha utilizado una base de datos de la universidad de Sevilla a través de una plataforma de biblioteca virtual, que recoge todos los artículos publicados en webs como Science direct o PubMed, es una fuente primaria.

5.2. Nombres claves

Las palabras claves en la búsqueda principal de artículos e información consultada en las bases de datos han sido: rational drug design; modern drug design; hepatocellular carcinoma; HCT-116 colon cancer; sorafenib; sorafenib analogues; drug target; cancer treatment; imidazol treatment; antibodies in cancer e immunotherapies.

5.3. Optimización de la búsqueda

La información referente a los métodos para llevar a cabo el diseño de fármacos se ha obtenido de artículos que recogían información sobre el avance en ello desde el siglo pasado hasta la actualidad, y su comparación a la hora de optimizar los procesos para su desarrollo. También se han estudiado artículos y revisiones publicadas, principalmente, de Science direct de los últimos 10 años. No obstante, dado que cualquier tema sobre un tratamiento para el cáncer está a la orden del día, en constante estudio y avance, se decidió acotar la búsqueda sobre el carcinoma hepático y cáncer de colon con sus respectivos tratamientos, en artículos y revisiones publicadas en los últimos 5 años para tener una referencia actualizada en los nuevos progresos en base a estas patologías.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Nuevos tratamientos en el carcinoma hepático

Hoy en día los tratamientos para esta patología tan compleja, en etapas avanzadas, son muy diversos. La mayoría suelen ser combinaciones de la terapia dirigida de sorafenib con otros antineoplásicos, para obtener un efecto de sinergismo.

Como consecuencia de la presencia de varias resistencias presentes en pacientes con tratamiento previo de sorafenib, se optó por realizar combinaciones de diferentes tratamientos como alternativa, para bloquear a la vez, varias vías de señalización bioquímicas o mecanismos que deriven en un progreso de las células tumorales. Algunos de estos dualismos se realizan con: inhibidores de los receptores de factor de crecimiento epitelial (VEGFR) como erlotinib, que disminuye el tiempo de tratamiento, pero no presenta mucha mejora significativa o inhibidores de mTOR como everolimus; con quimioterapias basadas en citotóxicos como el oxaliplatino, doxorubicina (se ha conseguido en ensayos clínicos alargar la esperanza de vida en pacientes tratados con esta terapia dual junto sorafenib) o 5-FU (5-fluorouracilo) e incluso agentes anti-angiogénesis como brivanib, que se usan debido a la alta expresión de VEGF, mecanismo parecido al sorafenib (Hollebecque y cols., 2015).

Un compuesto análogo a sorafenib, llamado compuesto SC-43, y probado in vivo en ratones a los que se le indujo este carcinoma hepático, se sintetizó con el objetivo de mejorar el efecto agonista, que se había descubierto de sorafenib, sobre la región homóloga 1 de Src (SHP-1, Src homology región 1). Su mecanismo principal se basa en evitar la unión del dominio N-SH₂ de SHP-1 a la zona catalítica del receptor "protein tyrosine phosphatase" PTP para evitar que se dé la fosforilación de STAT-3 (transductor y activador de la transcripción, parte de la señalización downstream para iniciar la transcripción de genes y dar lugar a células nuevas) a P-STAT-3, y así asegurar la apoptosis de la célula y no su supervivencia (Chao y cols., 2016).

Respecto a los nuevos agentes contra el cáncer, presentan una serie de dianas nuevas en las que se quiere trabajar para avanzar en este tratamiento. Intentando conseguir que sean cada vez más específicos y selectivos sobre varias dianas oncológicas y así conseguir que el efecto sólo ocurra en células tumorales evitando el mínimo daño sobre las células endógenas, en este caso hepatocitos. Los agentes que actualmente destacan son:

1. *Inhibidores de MET*: MET juega un papel en la supervivencia, la hipoxia y la invasión, características asociadas con la resistencia a la terapia antiangiogénica, el crecimiento y la resistencia terapéutica de tumores resistentes a la terapia anti-angiogénica (Jahangiri y

cols.,2013). Se ha descubierto una clara evidencia sobre el papel del receptor tirosin quinasa MET y su ligando "hepatocyte growing factor" (HGF) en los carcinomas hepáticos y células metastásicas de esta patología. Sólo los pacientes con alta expresión de MET en sus tumores, mejoraron parcialmente con cabozantinib cuando se usó como segunda línea de tratamiento (combina el ser inhibidor de la tirosin quinasa de MET y VEGFR-2).

2. *Inmunoterapias*: vamos a destacar tres métodos. La primera se basa en el uso de vacunas preventivas y terapia viral, la segunda es la linalidomida por su efecto inmunomodulador y la última tiene como objetivo bloquear los puntos de control del sistema inmune.

- Vacunas con péptidos o virales, dentro de este grupo se hacen dos diferenciaciones: las vacunas cuyo principal objetivo es prevenir la hepatitis B, uno de los factores de riesgo más importante en este cáncer (Dutta y cols., 2017) y las de tipo viral, que aún están en fases tempranas de ensayo clínico. Estas últimas se basan en utilizar un virus cuyo material genético ha sido modificado para atacar a células con una serie de biomarcadores en su membrana, entrar en ellas y debido a su multiplicación dentro, se produzca la lisis de esa célula (Hollebecque y cols., 2015).
- Linalinomida, es un análogo de la talidomida, con efecto inmunomodulador y propiedades anti-angiogénicas, que incluyen la alteración en la producción de citoquinas pro-inflamatorias, la activación de células T y la estimulación natural de las células NK (natural killer) que atacan a este tipo de células.
- Bloqueo de los puntos de control del sistema inmune. En el carcinoma hepático vamos a destacar tres líneas importantes en las que se utilizarán anticuerpos monoclonales, como principales elementos, en esta inmunoterapia. Estos puntos serán: los linfocitos T citotóxicos asociados al antígeno 4 (CTLA4); los puntos de control de muerte programada con PD-1/PDL-1 y por último también los CD47 (proteína transmembrana) expresados en exceso en las células del carcinoma hepático. El objetivo será impedir que las células tumorales evadan la respuesta del sistema inmune (Hoseini y cols., 2017).

Hay ciertas células en el organismo encargadas de atacar a las tumorales, como los linfocitos T y algunas NK (natural killer) entre otras. El problema surge cuando las tumorales desarrollan resistencias para evadir la respuesta inmune. Con las inmunoterapias, se pretende potenciar la respuesta adaptativa (detectar antígenos nuevos y crear una memoria con los linfocitos T y B para destruir a las que lo expresen), bloqueando los puntos de control para que las cancerígenas no se puedan "esconder". Los linfocitos expresan una serie de proteínas en su membrana para

detectar antígenos, en respuesta a ello la tumoral expresa otras proteínas, con el objetivo de bloquear la posible unión entre ambas, y acabe desencadenando su destrucción. El CTLA-4 es un receptor en la superficie del linfocito T cuya estimulación da lugar a una bajada en la actividad de la respuesta inmune, como modo de regulación. Las células tumorales que expresan la proteína B7 en su membrana, al interactuar con el CTLA-4 del linfocito T da lugar a su estimulación. El primer anticuerpo monoclonal comercializado para bloquear a CTLA-4 fue el ipilimumab. Otro de los puntos de control es el receptor PD-1 expresado también en el linfocito T y el ligando PDL-1 expresado por la célula tumoral. En este caso se dan dos uniones, primero se une el receptor del linfocito al antígeno de la célula, y después se une el PD-1 a PDL-1 (truco para no ser reconocida como extraña). Al evitar esa última unión con un Anti-PD-1 o Anti-PDL-1, ya se puede dar la respuesta de forma correcta destruyéndola. Por último, la proteína transmembrana CD-47 sobreexpresada por ejemplo por las células del carcinoma humano, ayudan a que éstas evadan la respuesta fagocitaria de los macrófagos. El bloqueo, aplicando un Anti-CD47, sería importante para facilitarle el trabajo al sistema inmune (Sim y cols., 2018).

Dentro de la inmunoterapia para el carcinoma hepático, destaca el anticuerpo monoclonal antiCD47mAbs, ya que se encontró que, de manera general, los hepatocitos expresaban CD47 levemente en su membrana para indicar a los macrófagos que se trataban de células endógenas y así no ser fagocitadas, pero las tumorales a modo de supervivencia, la sobreexpresaban en su membrana a modo de protección. Cuando se aplicó anti-CD47 in vitro sobre la línea de células HepG2 Y H3B, se produjo una migración significativa de los macrófagos sobre estas células, y fueron fagocitadas, lo que dio lugar a la inhibición del crecimiento del tumor. Este anticuerpo monoclonal no ataca a hepatocitos sanos (Xiao y cols., 2015). Cuando el anticuerpo se une a CD47, al tomar contacto con el dominio SIRP- α (proteína reguladora) del macrófago, la identifica como exógena y la fagocita. Esto se llama bloqueo del eje CD47/ SIRP- α (Weiskopf, 2017) (ver Figura 4).

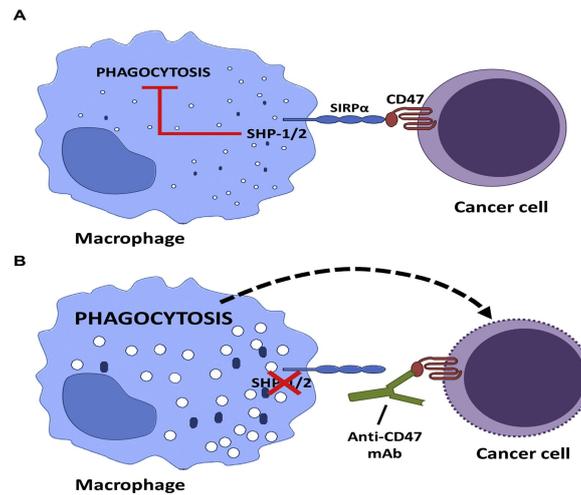


Figura 4. Bloqueo del eje CD47/ SIRP- α (Weiskopf, 2017).

También se aprovechó el mecanismo específico de estos anti-CD47, para diseñar un nuevo concepto: la liberación localizada de quimioterapéuticos, a través de ellos, como la doxorubicina. Para ello, se diseñan inmunoliposomas, anticuerpos anti-CD47 conjugados con liposomas encargados de liberar doxorubicina. Dadas las innumerables características de un tumor, a nivel genético, depende mucho del paciente ya que no siguen un mismo patrón. Es por ello que, aún no están aprobados para patologías específicas, sino para las células tumorales que sobreexpresen específicamente CD47 en su membrana (Wang y cols., 2017). Por último, referente al bloqueo de puntos de control, recientemente se ha intentado utilizar las células dendríticas con exosomas (pequeñas vesículas que utilizan las células para comunicarse entre ellas) en combinación con anticuerpos anti-PD-1. Los exosomas de las células tumorales actuaban como antígenos para activar las células T. El sorafenib al producir una pequeña hipoxia en estas células, en modelos con ratones, producía una sobreexpresión de PDL-1, por lo que se decidió que al aplicar un anticuerpo monoclonal PDL-1 como tratamiento complementario al sorafenib se alcanzaba el efecto deseado e inhibía el crecimiento del tumor (Shi y cols., 2018).

También destacan algunas nuevas dianas basadas en inhibir ciertos factores o componentes cruciales para evitar el avance de la enfermedad, controlando tanto su crecimiento como su proliferación. Estas dianas serían (ver figura 5):

- Inhibidores Mek: enzima de la cascada de fosforilación Ras/Raf/Mek/Erk, en casos de pacientes que muestren también una mutación de Ras en sus células, aunque los ensayos realizados hasta el momento no han sido del todo óptimos.

- Inhibidores de la telomerasa: las células tumorales de este hepatocarcinoma suelen sobreexpresar el promotor de TERT (subunidad de la enzima telomerasa). Es por ello, que las nuevas estrategias se orientan en la regulación de la actividad de esta enzima, para que no se produzcan tantas divisiones nuevas de células, de forma rápida. Se ha propuesto también una estrategia directa con inhibidores de FGF “fibroblast growth factor”, fundamentales para evitar que el tumor aumente de tamaño tras las sucesivas divisiones.
- Inductores de la apoptosis: TRAIL “tumour necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand” y Glipican-3, este último pertenece a la familia de proteoglicanos heparina sulfato, sobreexpresados en células tumorales del carcinoma hepático. Inhibidores de TGF- β “transformate growth factor β ”, bloqueándolo con un anticuerpo monoclonal junto a sorafenib se consigue parar el crecimiento de estas células. La privación del aminoácido arginina, aún en ensayos clínicos, ha demostrado una inducción directa a muerte celular. Por último, los inhibidores de la histona deacetilasa (modulan la expresión de genes produciendo un aumento de acetilación en las histonas). Todos estos inhibidores mejoran sus resultados al combinarlos con sorafenib (Dutta y cols., 2017).

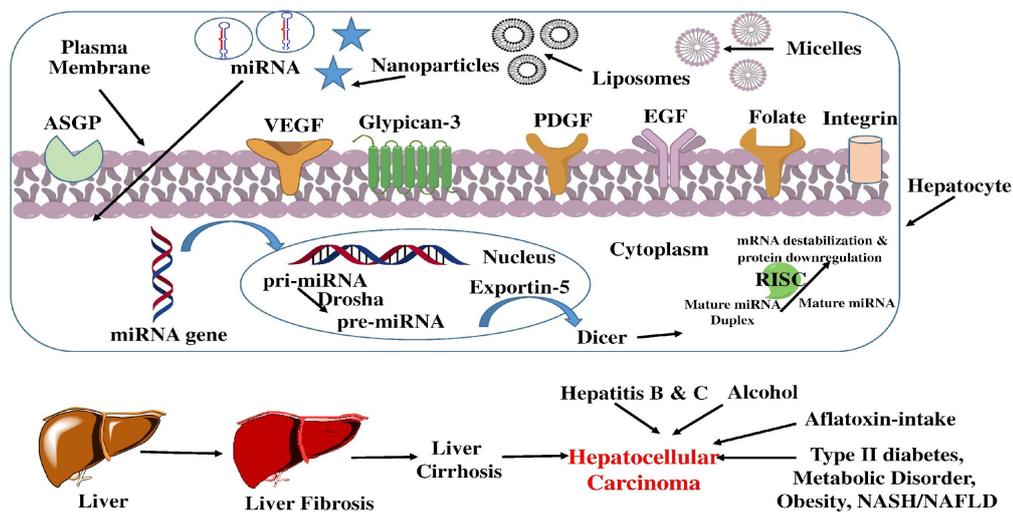


Figura 5. Esquema de las dianas principales en nuevas terapias y la etiología (Dutta y cols., 2017).

6.2. Nuevos tratamientos para el cáncer de colon

El uso de los esquemas de tratamiento FOLFIRI, FOLFOX y CAPEOX están muy generalizados en pacientes con esta patología, pero con la introducción de los anticuerpos monoclonales en estos tratamientos, se ha mejorado el pronóstico, sobre todo con pacientes en etapas avanzadas de la enfermedad. Entre ellos destacan, como terapia dirigida, bevacizumab, panitumumab y cetuximab con mecanismos inhibitorios sobre VEGF, que actúan inhibiendo la angiogénesis, afectando a su mecanismo de transducción. Estos anticuerpos monoclonales se han aprobado para complementar tratamientos quimioterapéuticos, como los anteriormente mencionados, en etapas avanzadas del cáncer colorrectal (Christoffersen y cols, 2009).

Los dos fármacos comercializados, hasta ahora, y aceptados como inmunoterapia oficial para esta indicación son: nivolumab y pembrolizumab. Ambos son anticuerpos monoclonales anti-PD1, pero en el caso de nivolumab se ha comprobado que aumenta su eficacia al combinarlo con el anti-CTLA4 ipilimumab. Estos anticuerpos monoclonales están indicados para estadios avanzados o cuando las mutaciones de la célula no permiten que haya una buena respuesta por parte de los citostáticos comunes, ya mencionados en el párrafo anterior. Lo curioso a destacar de esta terapia es que sólo se aplica tras analizar las características genéticas del tumor (Boland y cols., 2017).

La nueva era del tamaño nano y la química verde, también se ha hecho un hueco en el diseño de ciertos tratamientos contra el cáncer. La química verde aporta el uso de extractos de plantas para obtener principios activos (seguros y fáciles de metabolizar frente a los sintetizados) manteniendo el concepto de ecología durante el proceso de elaboración (evitando residuos tóxicos). La nanotecnología nos permite encapsularlos para utilizarlos a modo de sistema de liberación controlada. Hoy en día la vectorización en nanotecnología es muy importante dentro de los nuevos conceptos de tratamientos con este sistema. Por ello, los tratamientos contra el cáncer no se podían quedar atrás ya que se quiere priorizar el efecto sobre las células tumorales frente a las sanas y evitar efectos secundarios graves. Un ejemplo de ello fueron unas pruebas de citotoxicidad que se realizaron sobre la línea de células HCT-116 con nanopartículas de óxido de cobre (compuesto extraído de la hoja de *O. conchinchinese* de la familia botánica fabáceas) que demostró in vitro ser eficiente. En este ámbito se pretende combinar ambas técnicas para aumentar la eficacia y disminuir la citotoxicidad de los nuevos tratamientos aplicando el tamaño nano en la síntesis y vectorizando (Gnanabel y cols, 2017)

Dentro de los principales factores de riesgo, se encuentran los procesos inflamatorios en esta zona. Se han realizado estudios en ratones sobre la gran importancia que tiene la microbiota y sus cambios o alteraciones cuando hay desequilibrios en ella, debido a infecciones tanto víricas como bacterianas, sobre todo las cepas con producción de enterotoxinas (*Shigella spp*, *Klepsiella spp*, *Salmonella spp*...). En estos estudios se observó una respuesta por parte del sistema inmune frente a los metabolitos tóxicos, liberados por bacterias infecciosas, que acaban activando linfocitos T-helper. Estos linfocitos al liberar citoquinas pro-inflamatorias durante un largo período de tiempo, en el que no se ha tratado esa patología, se relaciona con inicios de tumorigénesis debido a una inflamación prolongada. A su favor, decir que en varios experimentos con roedores, se comprobó que al aportar gran cantidad de *Lactobacillus spp*. en su dieta, había un claro efecto beneficioso. No sólo regulaba el crecimiento o proliferación de las bacterias patógenas, sino que también producían como metabolitos secundarios sustancias antioxidantes entre otras. Los antioxidantes son beneficiosos frente al estrés oxidativo y las demás son de tipo inmunomodulador, que colaboran para que la respuesta inmune no sea tan agresiva (Zhang y cols, 2018)

6.3. Otros tratamientos basados en indazol

Los métodos computacionales han ayudado a mejorar el uso de este grupo funcional, para ampliar su aplicación en el diseño de compuestos contra el cáncer. Un ejemplo de ello, es un estudio que se hizo sobre un derivado de diarilurea basado en indazol, como compuesto anticancerígeno. Gracias a sus estudios con SAR y molecular docking, se descubrió que al añadir un grupo polar a la piridina del indazol, mejoraban las características sobre su solubilidad y actividad antiproliferativa. Las moléculas que resultaron del estudio, fueron comparadas frente a la actividad del sorafenib y demostraron in vitro, bastante mejoría en células HCT-116 (en cáncer de colon) y en células de carcinoma hepatocelular de la línea PLC/PRF/5 (Chu y cols., 2017).

También se realizó un estudio piloto sobre células humanas de melanoma, utilizando otro derivado de diarilurea basado en indazol, como análogo al sorafenib, que demostró in vitro una inhibición mayor. Cabe destacar que en este caso se tuvieron en cuenta dos datos: la actividad intrínseca de las mitocondrias, midiendo la concentración de citocromo C, y el aumento de las caspasas 9 y 3 (implicadas en la inducción de la apoptosis). Como resultado, al medir la concentración de citocromo C dentro y fuera en el citosol, tras la exposición durante 48 h. del compuesto llamado 1082-39, se observó un incremento claro en el citosol respecto al interior de la mitocondria. En base a ello, se puede deducir que ha habido una inducción y

posterior activación de las vías de apoptosis celular. La caspasa 9 inactiva, se une a su cofactor Apaf-1 y forman su complejo activo que junto al aumento de citocromo C en el citosol van a producir la activación de la apoptosis (Chu y cols., 2014).

La Ionidamina es una de las moléculas, que con indazol como grupo funcional principal, demostró una clara inhibición sobre el metabolismo energético celular. Este hecho se puede considerar un punto muy interesante, a la hora de tenerla en cuenta para tratamientos contra el cáncer y además potencia la efectividad de la radioterapia (PubChem, 2018). Teniendo en cuenta que el metabolismo de las células tumorales cambia hacia un mayor consumo energético, tanto en procesos de respiración celular como en consumo de glucosa, se eligió esta molécula. Desafortunadamente en 2006 en ensayos clínicos, fue anulada por la gravedad de sus efectos secundarios, aunque se han diseñados derivados de ella. De momento estos derivados en ensayos preclínicos, han dado buenos resultados en células de cáncer de mama, dependientes de estrógenos inhibiendo la enzima aromatasa (intermedia en síntesis de estrógenos) (Thirupalu y cols., 2014).

6.4. Objetivos y fundamentos del funcionamiento de estos fármacos

El objetivo fundamental siempre ha sido evitar un efecto agresivo de los tratamientos contra el cáncer sobre células sanas, disminuyendo también los efectos secundarios graves que suelen tener. Actualmente se añade el concepto de combatir resistencias de las diferentes células tumorales cuando son tratadas por un sólo fármaco, que tiene una o varias dianas, ya que con motivo de sobrevivir y seguir su proliferación e incluso llegar a otros órganos produciendo metástasis, buscan mecanismos o nuevas rutas para seguir avanzando evadiendo el efecto inhibitorio de estas moléculas o la propia respuesta inmunitaria del cuerpo cuando las ataca. Con vistas a un futuro cercano, se están realizando caracterizaciones a niveles muy específicos de los tumores, para saber exactamente qué diana se va a atacar. También, el uso de inmunoterapias ayuda a avanzar en la regulación de la respuesta inmune del propio organismo para que sea él, de forma natural, quién ataque a esas células tumorales y así evadir por completo las complicaciones que conllevan los tratamientos antineoplásicos exponiendo al cuerpo a agentes altamente tóxicos (Grandhi y cols, 2016)

6.5. Nuevas dianas terapéuticas y terapias innovadoras contra el cáncer

Tras el gran descubrimiento, en los años noventa, de la secuenciación del genoma humano, apareció un nuevo concepto a la hora de investigar cualquier enfermedad, sobre todo supuso un gran avance en investigación del proceso de proliferación o diferenciación celular, mutaciones en genes y angiogénesis (cascadas de señalización, fosforilaciones,

procesos de inflamación y evasión de la respuesta inmune como por ejemplo de las células NK), que desencadenan el inicio de una tumoración maligna o cáncer. Actualmente, uno de los receptores más investigados para terapias contra el cáncer son los acoplados a proteínas G (GPCR's) como diana principal. Se encuentran implicados en procesos de inicio y proliferación celular descontrolada, cuando hay ciertas mutaciones que dan cambios en la expresión de componentes tipo aminas, péptidos, hormonas y proteínas entre otras, implicadas en señalizaciones intracelulares. Estos componentes importantes para el propio metabolismo de la célula, así como la transmisión o la proliferación celular (Nieto y cols,2017).

Por otro lado, también se está desarrollando el concepto de vectorización de fármacos para que el ataque sea focalizado en el tumor o células tumorales y no afecte a las sanas. Esto permite disminuir su toxicidad, como por ejemplo el ataque directo sobre señales de transducción en el núcleo, evitando que las acciones claves de la proliferación celular no se den. Esto permite que se bloquee de manera directa el efecto de los oncogenes o que las mutaciones en ciertos cromosomas claves no avancen, favoreciendo la homeostasia (Levitzi y cols, 2010).

Las nuevas terapias contra el cáncer han avanzado mucho en los últimos 20 años, con tratamientos que han dado un giro total en esta última década. Algunos de esos avances no se basan sólo en la aplicación de un antineoplásico, sino que se combinan diferentes métodos para asegurar una eficacia más alta de la terapia global sobre el paciente. Las quimioterapias con métodos radiológicos o cirugía eran los más comunes. Ahora van más allá y se aplican terapias dirigidas y uso de anticuerpos monoclonales, que se incluyen en la anterior o en inmunoterapias (actuando como inhibidores específicos o como agentes que inhiben los puntos de control del sistema inmune), además de métodos preventivos como algunas vacunas que se han diseñado en la última década. Este avance también se debe a los nuevos conceptos en investigaciones del cáncer, como la caracterización de los tumores a nivel bioquímico, molecular y genético. Anteriormente, el objetivo principal estaba centrado en el ataque a los mecanismos de las células tumorales para evitar su crecimiento, proliferación descontrolada... pero actualmente los objetivos han cambiado. Ya no sólo se ataca a las células tumorales de manera directa inhibiendo sus mecanismos característicos, sino que se pretende inducir a otras, como las del sistema inmune, para que ataquen y acaben con ellas. Esta innovación se denomina inmunoterapia, cuyo objetivo es estimular el ataque del sistema inmune adaptativo (células presentadoras de antígenos como son los macrófagos y las células dendríticas (del sistema inmune mieloide)) a reconocer esas células tumorales, a pesar de que pretendan enmascarar su condición, y acaben con ellas generando además una memoria

inmunológica para favorecer su ataque y control en la proliferación, por parte del sistema inmune. Actualmente, como dianas principales tienen los linfocitos T citotóxicos asociados al antígeno 4 (CTLA4), los puntos de control de muerte programada con PD-1/PDL-1 y por último también los CD47 (proteína transmembrana) que se han encontrado muy expresados en células tumorales y como objetivo está el bloqueo en el eje CD47/ SIRP- α . Esta nueva idea surgió al observar los mecanismos que utilizaban las células tumorales para sobrevivir evadiendo el ataque del sistema inmune. En relación al eje CD47/SIRP- α , en principio se investigó a SIRP- α como receptor de la tirosin quinasa asociada a las inhibitorias SHP-1/2, SIRP- α se expresa en la superficie de las células mieloides (macrófagos, monocitos, células dendríticas y granulocitos), su unión a CD47 por el dominio N-terminal que tiene, promueve la fosforilación de componentes intracelulares que activan las fosfatasa inhibitorias SHP-1/2 y acaban dando una evasión de la respuesta inmune ya que la célula mioide identifica esa célula como sana y endógena. De ahí la importancia de bloquear ese eje con anticuerpos monoclonales para que se acabe fagocitando la célula tumoral que sobreexpone CD47 (Weiskopf, 2017). Un ejemplo de anticuerpo monoclonal cuyo target es PD-1, una proteína de muerte programada que se expresa en los linfocitos T, al ser bloqueado favorece la respuesta inmune y acaba con las células malignas retrasando su crecimiento es nivolumab (Sim y cols, 2017).

Dentro de la onco-inmunología, se ha incluido el uso de diferentes tipos de vacunas, entre las que destacan tres tipos, algunas aún en período de investigación:

- *Las vacunas preventivas* suponen un gran avance por que evitan precozmente que se desarrolle el cáncer. Un ejemplo de ellos es la vacuna contra el papilomavirus, agente causal del cáncer de endocérvix, como preventiva.
- *Vacunas contra el cáncer*, son las que se encargan de combatir el tumor estimulando el sistema inmune a base de dos métodos revolucionarios: uno basado en extraer antígenos específicos del propio tumor, realizando una vacuna con ellos (Dutta y cols, 2017) y el segundo, algo más complicado, se basa en reinyectar de nuevo los glóbulos blancos del paciente. Este método consiste en extraer de una muestra de sangre, los glóbulos blancos del paciente y los antígenos del tumor en sí (los cambios en sus proteínas de membrana se considerarán antígenos). Los glóbulos blancos se modifican para que reconozcan las características del tumor como algo exógeno, y al exponerlos, se genera una pequeña memoria inmunológica. Una memoria que, al ser de nuevo

inyectados en el paciente, se desea que comuniquen al resto del sistema inmune para que acaben destruyendo la células de la masa tumoral.

- Las revolucionarias *vacunas víricas* encargadas de realizar una “terapia con virus oncológicos” modificados para atacar a células tumorales, infectándolas y provocando su lisis debido a su multiplicación dentro de ellas. Los anticuerpos monoclonales con su uso en terapias dirigidas también se amplía, con una nueva adaptación a base de conjugarlos con citotóxicos (Sochaj y cols, 2015) para aprovechar la especificidad a la hora de unirse a un target con la vectorización de un quimioterapéutico (Pabst y cols, 2017).

Para finalizar, señalar de nuevo el uso de la nanotecnología como un nuevo concepto incluido en las terapias contra el cáncer. Este método pretende unir los conceptos de efecto único en las células tumorales, en base a la liberación localizada, gracias al transporte de citostáticos por vectorización, sin afectar a otros tejidos y tratando de disminuir las dosis aplicadas para bajar la toxicidad. Se tratan de nanopartículas sintetizadas en base a las nuevas dianas, que tienen en cuenta los cambios en la biología molecular de la célula para plantear como objetivo la inducción de su apoptosis, aumentar la respuesta del sistema inmune o liberar el tratamiento quimioterapéutico en el tumor poco a poco para disminuir sus efectos secundarios. Dentro de los transportadores de citotóxicos se encuentran: nanotubos de carbono, liposomas, dendrímeros, micelas poliméricas y conjugados o nanopartículas poliméricas (E. Pérez-Herrero y cols, 2015). Su uso en terapias génicas también ha destacado mucho como parte de nuevos tratamientos, llevando a cabo mecanismos basados en el suicidio de la célula. Su mecanismo, de forma general, se basa en aplicar un compuesto como tratamiento en principio inocuo, pero que dentro de la célula tumoral se transforme en un compuesto tóxico, provocando su muerte. También es útil para “silenciar oncogenes” para evitar las mutaciones que den lugar a procesos tumorales o estimular genes inmunomoduladores (Wanga y cols, 2016).

7. CONCLUSIONES

El cáncer, es una de las patologías más heterogéneas y complejas que existen hoy en día, a pesar de tener algunos mecanismos o características comunes, sigue siendo para los investigadores, uno de los paradigmas a resolver más complicados. El objetivo que se pretende conseguir en sus infinitas investigaciones, es ir un paso por delante de su avance y así evitar sus terribles consecuencias. Debido a su complejidad, el descubrimiento y diseño de nuevos fármacos, no suele ser fácil teniendo en cuenta que sus características o propiedades deben ser muy específicas. Los procesos de síntesis, ensayos pre/clínicos y su posterior aprobación, se consideran los más coste-efectivos del mercado.

Los métodos computacionales y sus aproximaciones, son esenciales para optimizar los procesos de síntesis, para favorecer que los compuestos se sinteticen desde el primer momento cumpliendo los objetivos definidos. Actualmente, también se dispone de grandes bases de datos dónde documentarse al completo sobre el nuevo fármaco que se vaya a sintetizar, pudiendo incorporar nuevas características para ampliar su uso en múltiples patologías. Un ejemplo de ello son los derivados de diarilurea basados en indazol que han mejorado las características de sorafenib como anticancerígeno.

Gracias a la era de la genética, las terapias individualizadas y uso de la inmunoncología, se está abriendo un nuevo campo para tratar los tumores de manera independiente unos de otros, con tratamientos personalizados para cada paciente. Estos tratamientos están basados en las características intrínsecas de ese tumor, contra las que se quiere combatir intentando afectar al resto del organismo lo mínimo posible. También se está optando por la combinación de varias terapias para favorecer la curación temprana o desaparición del tumor en su totalidad. En casos de estadios avanzados se pretende asegurar la supervivencia o al menos una buena calidad de vida para el paciente.

8. BIBLIOGRAFÍA

American Cancer Society. Tratamiento del cáncer colorrectal. 2018; [en línea]. [Consultado en mayo 2018]. Disponible en: <https://www.cancer.org/es/cancer/cancer-de-colon-recto/tratamiento/por-etapas-colon.html>

Armengol C, Sarrias MR, Sala M. Hepatocellular carcinoma: Present and future. *Med Clin (Barc)*. 2018; 150 (10) 390-397.

Boland PM, Ma WW. Immunotherapy for Colorectal Cancer. *Cancers (Basel)*. 2017; 9(5) 50

Campbell IB, Macdonald SJF, Procopiou PA. Medicinal chemistry in drug discovery in big pharma: past, present and future. *Drug Discov Today*. 2018; 23 (2) 219-234.

Centros para el control y prevención de enfermedades (CDC). Estadísticas del cáncer colorrectal. 2018 ; [en línea]. [Consultado en mayo 2018]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/spanish/cancer/colorectal/statistics/index.htm>

Cunha L, Szigeti K, Mathé D and Metello LF. The role of molecular imaging in modern drug development. *Drug Discov Today*. 2014; 17 (9) 936-948.

Chao TI, Tai WT, Hung MH, Tsai MH, Chen MH, Chang MJ, et al. A combination of sorafenib and SC-43 is a synergistic SHP-1 agonist duo to advance hepatocellular carcinoma therapy. *Cancer Lett*. 2016; 371 (2) 205–213.

Christoffersen T, Guren TK, Garm Spindler KL, Dahl O, Lønning PE, Gjertsen BT. Cancer therapy targeted at cellular signal transduction mechanisms: Strategies, clinical results, and unresolved issues. *Eur J Pharmacol*. 2009; 625 (1) 6–22.

Chu JH, Zhao CR, Song ZY, Wang RQ, Qin YZ, Li WB, et al. 1082-39, an analogue of sorafenib, inhibited human cancer cell growth more potently than sorafenib. *Biomed Pharmacother*. 2014; 68 (3) 335-341.

Chu Y-y, Cheng H-j, Tian Z-h et al. Rational drug design of indazole-based diarylurea derivatives as anticancer agents. *Chem Bio Drug Des*. 2017; 90 (4) 609-617.

Dutta R, Mahato RI. Recent advances in hepatocellular carcinoma therapy. *Pharmacol Therapeut*. 2017; 173 (1) 106–117.

Eastgate MD, Schmidt MA and Fandrick KR. On the design of complex drug candidate syntheses in the pharmaceutical industry. *Nat Rev Chem*. 2017; 1-16

Firdaus Begam B and Dr. Kumar JS. A Study on Cheminformatics and its Applications on Modern Drug Discovery. *Procedia Engineer*. 2012; 38 1264-1275.

Food and Drug Administration (FDA). Agencia reguladora de alimentos, medicamentos, cosméticos, aparatos médicos, productos biológicos y derivados sanguíneos de EE.UU. [en línea]. [Consultado en mayo 2018]. Disponible en: <https://www.fda.gov/Drugs/default.htm>

Gnanavel V, Palanichamy V, Roopan SM. Biosynthesis and characterization of copper oxide nanoparticles and its anticancer activity on human colon cancer cell lines (HCT-116). *J Photoch Photobio B.* 2017; 171 133–138.

Grandhi MS, Kim AK, Ronnekleiv-Kelly SM, Kamel IR, Ghasebeh MA, Pawlik TM. Hepatocellular carcinoma: From diagnosis to treatment. *Surg Oncol.* 2016; 25 74-85.

Harner MJ, Mueller L, Robbins KJ, Reily MD. NMR in drug design. *Arch Biochem Biophys.* 2017; 628 132-147.

Hollebecque A, Malka D, Ferte C, Ducreux M, Boige V. Systemic treatment of advanced hepatocellular carcinoma: From disillusion to new horizons. *Eur J Cancer.* 2015; 51, 327-339.
Hoseini SS, Cheung NV. Immunotherapy of hepatocellular carcinoma using chimeric antigen receptors and bispecific antibodies. *Cancer Lett.* 2017; 399 44-52.

Jahangiri A, De Lay M, Miller LM, Carbonell WS, Hu Y-I, Lu K, Maxwell WT, et al. "Gene Expression Profile Identifies Tyrosine Kinase c-Met as a Targetable Mediator of Anti-angiogenic Therapy Resistance." *CLIN CANCER RES.* 2013; 19 (7) 1773-83.

Katsila T, Spyroulias GA, Patrinos GP, Matsouka MT. Computational approaches in target identification and drug discovery. *Comput Struct Biotechnol J.* 2016; 14 177-184.

Levitzki A, Klein S. Signal transduction therapy of cancer. *Mol Aspects Med.* 2010; 31 287–329.

Li W, Pang IH, Thiago M, Pacheco F and Tian H. Ligandomics: a paradigm shift in biological drug discovery. *Drug Discov Today.* 2018; 23 (3) 636-643.

Lounnas V, Ritschel T, Kelder J, McGuire R, Bywater RP, Faloppe N. Current progress in structured-based rational drug design marks a new mindset in drug discovery. *Comput Struct Biotechnol J.* 2013; 5 (6) 1-14.

Mandal S, Mougil M, Mandal SK. Rational drug design. *Eur J Pharmacol.* 2009; 625 90–100.

Manjunathaiah N, Pingili D, Kadasi S, Mettu A. Dual or multi-targeting inhibitors: The next generation anticancer agents. *Eur J Med Chem.* 2017; 143 1277-3000.

Medina-Franco JL, Fernández de Gortari E y Naveja J. Avances en el diseño de fármacos asistido por computadora. *Educ quim.* 2015; 26 (3) 180-186.

MedLinePlus. Biblioteca Nacional de Medicina de los EE.UU. Enciclopedia Médica A.D.A.M. [en línea]. Carcinoma hepatocelular; [actualizado 14 ago 2017; consultado 15 abr 2018]. Disponible en: <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/000280.htm>.

MedLinePlus. Biblioteca Nacional de Medicina de los EE.UU. Enciclopedia Médica A.D.A.M. [en línea]. Carcinoma hepatocelular; [actualizado 1 feb 2017; consultado 16 abr 2018]. Disponible en: <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/000262.htm>.

Nieto Gutierrez A, McDonald PH. GPCRs: Emerging anti-cancer drug targets. *Cell Signal*. 2018; 41 65–74.

Pabst M, McDowell W, Manin A, Kyle A, Camper N, de Juan E et al. Modulation of drug-linker desing to enhance in vivo potency of homogeneous antibody-drug conjugates. *J Control Release*. 2017; 253 160-164.

Palmer DH, Ma YT, Peck-Radosavljevic M, Ross P, Graham J, Fartoux L, et al. A multicentre, open-label, phase-I/randomised phase-II study to evaluate safety, pharmacokinetics, and efficacy of nintedanib vs. sorafenib in European patients with advanced hepatocellular carcinoma. *Brit J Cancer volumen*. 2018; 118 1162–1168.

Pérez-Herrero E, Fernández-Medarde A. Advanced targeted therapies in cancer: Drug nanocarriers, the future of Chemotherapy. *Eur J Pharm Biopharm*. 2015; 93 52–79.

Peska L, Buza K, Koller J. Drug-target interaction prediction: A Bayesian ranking approach. *Comput Meth Prog Bio*. 2017; 152 15–21.

PubChem. Open chemistry database. NIH: National Institutes of Health [en línea]. [Consultado en mayo 2018]. Disponible en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Ionidamine#section=Top>

Shi S, Rao Q, Zhang C, Zhang X, Qin Y and Niu Z. Dendritic Cells Pulsed with Exosomes in Combination with PD-1 Antibody Increase the Efficacy of Sorafenib in Hepatocellular Carcinoma Model. *Trans Oncol*. 2018; (11) 250-258.

Sim HW, Knox J. Hepatocellularcarcinomaintheeraof immunotherapy. *Curr Prob Cancer*. 2018; 42 40–48.

Sochaj AM, Swiderska KW, Otlewski J. Current methods for the synthesis of homogeneous antibody-drug conjugates. *Biotechnol Adv*. 2015; 33 775-785.

Sun S, He Z, Huang M, Wang N, He Z, Kong X, Yao J. Design and discovery of thioether and nicotinamide containing sorafenib analogues as multikinase inhibitors targeting B-Raf, B-RafV600E and VEGFR-2. *Bioorgan Med Chem*. 2018; 26 2381–2391.

Tang J, Tanoli Z, Ravikumar B, Repasky G, Wennerberg K, Aittokallio T, et al. Drug Target Commons: A Community Effort to Build a Consensus Knowledge Base for Drug-Target Interactions. *Cell Chem Biol*. 2018; 25 224–229.

Thirupalu M, Hanuman V, Krishna C, Krishna V, Rami YM. Synthesis and molecular docking studies of new substituted indazole derivatives for anti-breast cancer activity. *Der Pharma Chemica*. 2014; 6 411-417

Wang M, Xu S, Wu C, Liu X, Tao H, Huang Y, Liu Y, et al. Design, synthesis and activity of novel sorafenib analogues bearing alccone unit. *Bioorgan Med Chem Lett*. 2016; 26 5450–5454.

Wang J, Wu Z, Pan G, Ni J, Xie F, Jiang B, et al. Enhanced doxorubicin delivery to hepatocellular carcinoma cells via CD147 antibody-conjugated immunoliposomes.- *Nanomedicine: Nanomed-Nanotechnol*. 2017; xxx–xxx

Wanga K, Kievit FM, Zhanga M. Nanoparticles for cancer gene therapy: Recent advances, challenges, and strategies. *Pharmacol Res.* 2016; 114 56–66.

Weiskopf K. Cancer immunotherapy targeting the CD47/SIRPa axis. *Eur J Cancer.* 2017; 76 100-109.

Xiao Z, Chung H, Banan B, Manning PT, Ott KC, Lin S, et al. Antibody mediated therapy targeting CD47 inhibits tumorprogression of hepatocellular carcinoma. *Cancer Lett.* 2015; 360 302–309.

Zhang Y, Wang X, Zhou M, Kang C, Lang H, Chen M, et al. Crosstalk between gut microbiota and Sirtuin-3 in colonic inflammation and tumorigenesis. *Exp Mol Med.* 2018; 50:21 DOI 10.1038/s12276-017-0002-0

Zheng Y, Tice CM, Singh SB. Conformational control in structure-based drug design. *Bioorg Med Chem Lett.* 2017; 27 2825–2837.

Zhu Y, Zheng B, Wang B, Chen L. New knowledge of the mechanisms of sorafenib resistance in liver cancer. *Acta pharm sinic.* 2017; 38 614–622.

-La foto de portada es una adaptación de la cabecera de la página web <http://www.verachem.com/>. Software for computer-aided drug discovery and molecular design.