

**UNIVERSIDAD PERUANA UNIÓN**

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

Escuela Profesional de Medicina Humana



**Virtual screening de compuestos peruanos de origen natural  
para inhibir el transportador de resistencia a múltiples  
medicamentos ABCG2**

Tesis para obtener el Título Profesional de Médico Cirujano

**Autor:**

Ricardo Josue Rojas Humpire

**Asesor:**

Salomón Huancahuire Vega

Lima, 24 de abril de 2023

## DECLARACIÓN JURADA DE AUTENTICIDAD DE TESIS

Yo Salomón Huancahuire Vega, docente de la Facultad de Ciencias de Salud, Escuela Profesional de Medicina Humana, de la Universidad Peruana Unión.

DECLARO:

Que la presente investigación titulada: **“Virtual screening de compuestos peruanos de origen natural para inhibir el transportador de resistencia a múltiples medicamentos ABCG2”** del autor Ricardo Josue Rojas Humpire tiene un índice de similitud de 7 % verificable en el informe del programa Turnitin, y fue realizada en la Universidad Peruana Unión bajo mi dirección.

En tal sentido asumo la responsabilidad que corresponde ante cualquier falsedad u omisión de los documentos como de la información aportada, firmo la presente declaración en la ciudad de Lima, a los 09 días del mes de mayo del año 2023.



Dr. Salomón Huancahuire Vega

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS



En Lima, Naña, Villa Unión, a 24 día(s) del mes de ABRIL del año 2023, siendo las 20:00 horas, se

reunieron los miembros del jurado en la Universidad Peruana Unión Campus Lima, bajo la dirección del (de la) presidente(a) Mg. EDDA EVNET NEWBALL NORIEGA, el (la) secretario(a) Mg. MANUEL DANIEL CONCHA TOLEDO y los demás miembros: Mg. POOL MARCOS CARRAJAL y el (la) asesor(a) Dr. SALOMÓN HUAYCANHIRE

VEGA con el propósito de administrar el acto académico de sustentación de la tesis titulada: VIRTUAL SCREENING DE COMPUESTOS PERUANOS DE ORIGEN NATURAL PARA INHIBIR EL TRANSPORTADOR DE RESISTENCIA A MÚLTIPLES MEDICAMENTOS ABCG2 del(los) bachiller(es) a) RICARDO JOSUE ROJAS HUMPIRE

b) c) conducente a la obtención del título profesional de: MÉDICO CIRUJANO

El Presidente inició el acto académico de sustentación invitando al (a la) / a (los) (las) candidato(a)s hacer uso del tiempo determinado para su exposición. Concluida la exposición, el Presidente invitó a los demás miembros del jurado a efectuar las preguntas, y aclaraciones pertinentes, las cuales fueron absueltas por al (a la) / a (los) (les) candidato(a)s. Luego, se produjo un receso para las deliberaciones y la emisión del dictamen del jurado. Posteriormente, el jurado procedió a dejar constancia escrita sobre la evaluación en la presente acta, con el dictamen siguiente:

Bachiller (a): RICARDO JOSUE ROJAS HUMPIRE

CALIFICACIÓN	ESCALAS			Mérito
	Vigesimal	Literal	Cualitativa	
A PROBADO	19	A	EXCELENTE	EXCELENCIA

Bachiller (b):

CALIFICACIÓN	ESCALAS			Mérito
	Vigesimal	Literal	Cualitativa	

Bachiller (c):

CALIFICACIÓN	ESCALAS			Mérito
	Vigesimal	Literal	Cualitativa	

(\*) Ver parte posterior  
Finalmente, el Presidente del jurado invitó al (a la) / a (los) (las) candidato(a)s a ponerse de pie, para recibir la evaluación final y concluir el acto académico de sustentación procediéndose a registrar las firmas respectivas.

\_\_\_\_\_  
Presidente/a

\_\_\_\_\_  
Asesor/a

\_\_\_\_\_  
Miembro

\_\_\_\_\_  
Miembro

\_\_\_\_\_  
Secretario/a

## **Dedicatoria**

A mis padres: Ricardo y Bertha,  
que descansan en el Señor, viven en mis  
memorias dándome fuerza para seguir  
en la vida.

Al grupo de investigación P53  
que apoyan los proyectos que emprendo,  
gracias por ser un soporte estos años de estudios.

A mis queridas hermanas Anabel y  
Andrea que son lo más preciado que tengo, a  
mis maestros, amigos y compañeros de viaje  
en esta bendita esperanza del pronto regreso de Jesús.

## Tabla de contenido

DECLARACIÓN JURADA DE AUTENTICIDAD DE TESIS .....	2
Dedicatoria.....	4
<b>1. Introducción.....</b>	<b>8</b>
<b>2. Materiales y métodos .....</b>	<b>9</b>
<b>3. Análisis de datos .....</b>	<b>11</b>
<b>4. Resultados .....</b>	<b>11</b>
<b>5. Discusión.....</b>	<b>14</b>
<b>6. Referencias bibliográficas .....</b>	<b>16</b>
Anexo 1. Características del tipo enlace y residuos de los complejos ligando receptor formados durante el virtual screening .....	19
Anexo 2. Estructuras 2D de los mejores compuestos con afinidad a ABCG2.....	22
Anexo 3. Sumisión del artículo .....	23
Anexo 4. Aprobación de comité de ética .....	24

**Virtual screening de compuestos peruanos de origen natural para inhibir el transportador de resistencia a múltiples medicamentos ABCG2**

**Virtual screening of Peruvian compounds of natural origin to inhibit the multidrug resistance transporter ABCG2**

Ricardo Rojas-Humpire<sup>1</sup>, <https://orcid.org/0000-0002-0631-0902>

Salomon Huancahuire-Vega<sup>1</sup>, <https://orcid.org/0000-0002-4848-4767>

<sup>1</sup>Universidad Peruana Union, Escuela de Medicina Humana, Grupo de investigación P53, Lima, Perú

**Autor correspondal:**

Ricardo Rojas-Humpire

[Ricardo.joshua.rojas@gmail.com](mailto:Ricardo.joshua.rojas@gmail.com)

+51 961 499 698

## Resumen

El transportador de resistencia a múltiples medicamentos ABCG2 es una proteína transmembrana que cumple funciones de eliminación de xenobióticos en una amplia gama de mamíferos. Dado que esta proteína es importante para el desarrollo de resistencia a antineoplásicos y Perú cuenta con diversidad de recursos naturales con potencial actividad terapéutica, el objetivo de nuestro trabajo fue determinar compuestos vegetales oriundos del país con la capacidad de inhibir el transportador ABCG2 por métodos *in-silico*. Para ello, se usó un pool de 300 compuestos naturales los cuales fueron filtrados a través de un virtual screening en AutoDock tools y Vina, los compuestos de mayor afinidad fueron analizados con PLIP para determinar los residuos de unión y tipo de enlace. Los resultados indican que procyanidin B4 ( $k_d=6.82$ ), procyanidin B5 ( $K_d=9.58$ ) y rutin ( $K_d=13.44$ ) mostraron ser compuestos superiores al control Curcumin Dimmer 3, tanto en energía libre de unión como en interacciones de enlaces hidrofóbicos, puentes de hidrogeno y pi-stacking en simultaneo de las cadenas A y B de ABCG2. Concluimos que existen metabolitos con capacidad inhibitoria *in-silico* de ABCG2 en plantas nativas de Perú, principalmente de *Uncaria tomentosa*, *Cestrum auriculatum*, *Mauritia flexuosa* y *Schinus molle* dentro de las plantas estudiadas, las cuales requieren estudios de validación *in-vitro* en ensayos *pre-clínicos* para su desarrollo como potenciales tratamientos en pacientes con enfermedades oncológicas.

**Palabras clave:** ABCG2, virtual screening, compuestos naturales, componentes antitumorales.

## Abstract

The multidrug resistance transporter ABCG2 is a transmembrane protein that performs xenobiotic elimination functions in a wide range of mammals. Since this protein is important for the development of resistance to antineoplastic drugs and Peru has a diversity of natural resources with potential therapeutic activity, the objective of our work was to determine plant compounds native to the country with the ability to inhibit the ABCG2 transporter by *in-silico* methods. For this purpose, a pool of 300 natural compounds was used, which were filtered through a virtual screening in AutoDock tools and Vina. The compounds with the highest

affinity were analyzed with PLIP to determine the binding residues and type of bond. The results indicate that procyanidin B4 ( $K_d=6.82$ ), procyanidin B5 ( $K_d=9.58$ ) and rutin ( $K_d=13.44$ ) were shown to be superior compounds to the control Curcumin Dimmer 3, both in binding free energy and in hydrophobic bond interactions, hydrogen bridges and pi-stacking in simultaneous A- and B-chains of ABCG2. We conclude that there are metabolites with in-silico ABCG2 inhibitory capacity in native Peruvian plants, mainly *Uncaria tomentosa*, *Cestrum auriculatum*, *Mauritia flexuosa* and *Schinus molle* among the plants studied, which require in-vitro validation studies in pre-clinical trials for their development as potential treatments in patients with oncological diseases.

**Key words:** *ABCG2, virtual screening, natural compounds, antitumor compounds.*

## 1. Introducción

El transportador de resistencia a múltiples medicamentos ABCG2 es un miembro de la familia de transportadores ABC (casete de unión a ATP), el cual comprende aproximadamente 48 miembros divididos en siete subfamilias (A-G). La función de los miembros individuales de esta familia de proteínas puede variar desde receptores para canales iónicos hasta transportadores de membrana para diversos metabolitos (1).

Fisiológicamente, ABCG2 es altamente expresado en sincitiotroblastos placentarios y endotelio cerebral, pero también se puede encontrar en la barrera hematoencefálica y membrana del polo apical de epitelio intestinal, hepático y renal. Debido al patrón de expresión en tejidos de ingreso y salida de xenobióticos del cuerpo, se cree que esta proteína funciona como un protector celular de sustancias potencialmente dañinas (fármacos y toxinas) (2–4).

Estudios por crio-microscopía electrónica de ABCG2, muestran que la proteína está conformada por un homodímero simétrico unido por un puente disulfuro entre los residuos C603 y C603' de ambos monómeros, además comprende dos dominios funcionales, el dominio de unión a nucleótidos citosólicos (NBD) y el dominio transmembrana (TMD) (2,3). La estructuración del TMD, conformada por seis hélices alfa (TM1 – 6), permite la formación de una hendidura para la recepción de sustratos en el lado citosólico denominada Cavidad 1, se postula

que esta hendidura de unión a sustrato tiene afinidad por moléculas planas, policíclicas e hidrofóbicas (5). Luego de la entrada de un sustrato a la cavidad 1 se produce un cambio estructural en el TMD que permite la dimerización y activación de la actividad ATPasa de NBD, así como la formación de la cavidad 2 en el lado extracelular y consecuente expulsión del sustrato (6).

La investigación enfocada a familias de transportadores de resistencia a múltiples medicamentos ABC es de suma importancia para diversas patologías, sobre todo enfermedades neoplásicas (7). Dado que, el tratamiento de base en oncología son esquemas con agentes quimioterápicos (8–10). En este sentido, ABCG2 ha recibido atención como blanco farmacológico, por su potencial contribución a la resistencia a múltiples fármacos en el tratamiento con quimioterapia (11). La alta expresión celular de ABCG2 se asocia con un mal pronóstico en el tratamiento de neoplasias sanguíneas como la leucemia mieloide aguda y el linfoma difuso de células B grandes. Sin embargo, el papel de ABCG2 en la resistencia a múltiples fármacos de otros tipos de neoplasias no está del todo claro; no obstante, se sabe que muchos de los sustratos de ABCG2 son agentes quimioterapéuticos (12–15).

Los inhibidores mejor caracterizados para ABCG2, como Fungal toxin fumitremorgin C (FTC) o tariquidar, presentan perfiles de toxicidad considerable, lo que dificulta su uso en ensayos clínicos oncológicos (16). Por otro lado, se tiene evidencia de ensayos *in-vitro* y en animales de potenciales inhibidores de baja toxicidad como febuxostat (15), o derivados de polifenilfluorocumarin del estudio de Kokubo S, et al (17). Sin embargo, es limitada la evidencia de ensayos clínicos controlados con enfoques terapéuticos robustos basado en inhibidores de ABCG2 al momento. Ante esta problemática, la investigación de compuestos naturales presenta alternativas potenciales para ampliar la carta de potenciales inhibidores para ABCG2. En este sentido, Perú cuenta con diversidad de flora y fauna a través de las diversas regiones que lo conforman, con escasa investigación experimental de sus recursos naturales. Razón por la cual, el objetivo del presente estudio fue determinar compuestos de origen natural con capacidad de inhibir al transportador de resistencia a múltiples medicamentos ABCG2 a través de herramientas de biología computacional.

## **2. Materiales y métodos**

Se realizó un estudio de simulación computacional en sistema operativo Linux, con enfoque en técnicas de biología computacional para la generación de sistemas biológicos precisos en condiciones fisicoquímicas cercanas a la realidad, pero en un entorno virtual (18).

Para la obtención de compuestos naturales se realizó una búsqueda manual en bases de datos de acceso público basado en características químicas de potenciales inhibidores de ABCG2 propuesto por Jackson et al (3). En él cual, se extrajo información estructural en formato de SMILES canónicos, para luego ser convertidos a un formato Mol 3D a través de un script *in-house* de Python en el open source software OpenBabel. Los principales repositorios del cual se obtuvo la información fueron PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) y ChEMBL (<https://www.ebi.ac.uk/chembl/>).

Se construyó el sistema biológico del transportador ABCG2, usando un template con código 6ETI del repositorio “Protein Data Bank” en formato \*.pdb (<https://www.rcsb.org/structure/6eti>). Se agregó una bicapa lipídica de 10 nm constituida por fosfatidil colina (POPC), luego se generó una caja de agua con pH de 7.4 y 140 mM de NaCl, todos estos procedimientos se realizaron en el servidor online CHARMM-GUI (<https://www.charmm-gui.org/>).

Para el virtual screening, una lista de compuestos naturales de *Mauritia flexuosa* (aguaje), *Pimpinella anisum* (anís), *Arnica montana* (árnica), *Peumus boldus* (boldo), *Theobroma grandiflorum* (copoazú), *Passiflora ligularis* (granadilla), *Annona muricata* (guanábana), *Piper auritum* (hierba santa), *Citrus × aurantiifolia* (lima), *Plantago major* (llanten), *Lepidium meyenii* (maca), *Zea mays L.* (maíz morado), *Piper aduncum* (matico), *Schinus molle* (molle), *Morinda citrifolia* (noni), *Dysphania ambrosioides* (paico), *Capsicum pubescens* (rocoto), *Croton lechleri* (sangre de grado), *Glycine max* (soya), *Passiflora tarminiana* (tumbo), *Uncaria tomentosa* (uña de gato), *Cestrum auriculatum* (hierba santa) y *curcuma longa* (curcuma) se transformaron a formato \*.pdbqt a través de OpenBabel. Luego la proteína ABCG2 se cargó en el programa AutoDock tools donde se le añadió cargas de Gasteiger y un GridBox que comprendió los residuos de importancia biológica para la activación de las subunidades A y B de la proteína (L405, V401, A397, N436, F439, R482, L554, F546, L539) (3). El algoritmo genético generado por AutoDock Vina permitió determinar la energía de unión de los diferentes

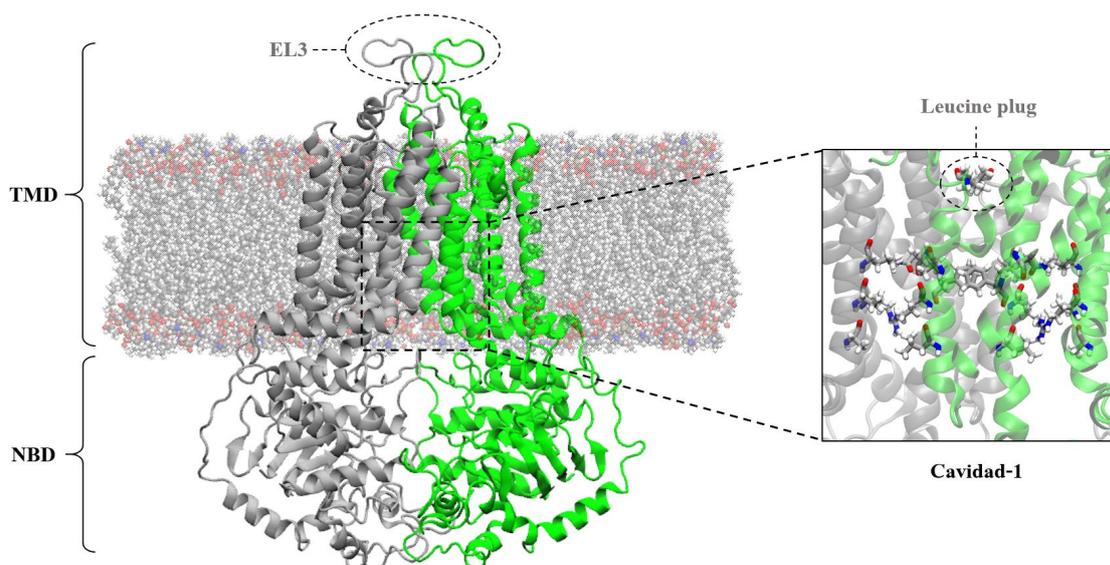
compuestos naturales (19). Seguidamente, los complejos formados fueron analizados en el programa PLIP para determinar los tipos de enlaces formados, los residuos de unión y la distancia de los mismos (20).

### 3. Análisis de datos

Los resultados del virtual screening se extrajeron en archivos \*.txt, luego fueron transferidos a tablas de cálculo en Microsoft Excel, donde se evaluó la energía de unión ( $\Delta$  de Gibbs) seleccionando los fitoquímicos que tuvieran energías más negativas que el control ATP, seguidamente esta energía fue convertida a constante de disociación (Kd). Los compuestos con los mejores Kd fueron escogidos para determinar sus interacciones y los residuos involucrados en el transportador ABCG2 en el programa PLIP.

### 4. Resultados

El sistema presentó un tamaño total en X de 122.76 Å, Y de 125.33 Å y Z de 155.98 Å, y un total de 206 335 átomos. El virtual screening se realizó con 300 compuestos naturales de diferentes plantas y frutos peruanos. De los cuales se extrajo los diez compuestos con mejor energía de unión a la cavidad 1 de ABCG2 en el TMD (Tabla 1). Los que se destacaron fueron la procyanidin B4 ( $\Delta G$  -11.1) y B5 ( $\Delta G$  -10.9) de *Uncaria tomentosa* y Rutin ( $\Delta G$  -10.7) de *Cestrum auriculatum*, como mejores ligandos por su alta energía libre de unión.



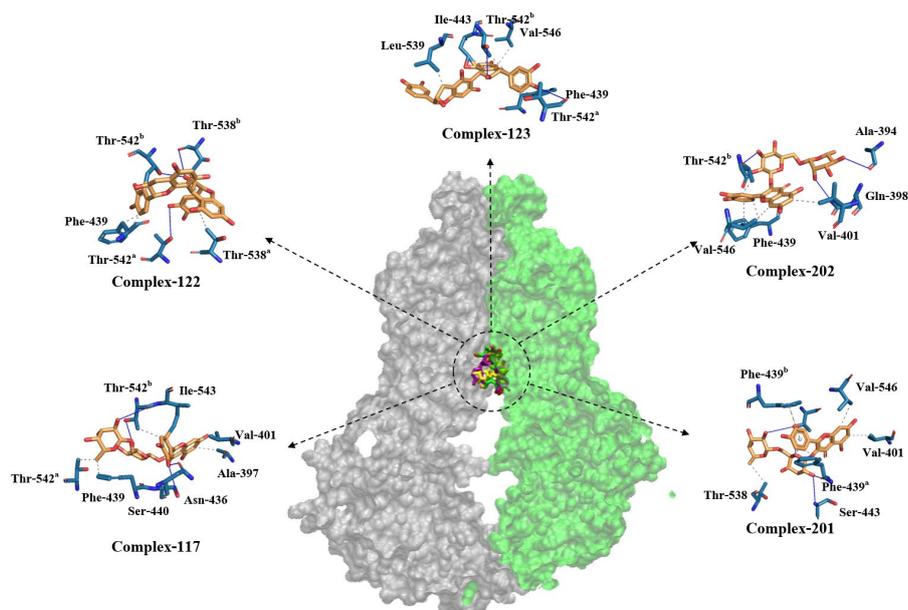
**Figura 1.** Sistema construido de ABCG2, homodímero con dos dominios de interés biológico, el dominio transmembrana (TMD) y el dominio de unión a nucleótidos (NBD). El pocket de unión a sustrato se ubica en la Cavidad-1.

La energía de unión de cada componente se transformó a Kd, encontrando valores para los tres mejores compuestos procyanidin B4 (kd=6.82), procyanidin B5 (Kd=9.58) y rutin (Kd=13.44), superiores al control de Curcumin Dimmer 3 (kd=26.46). Los residuos en común de interacción para los compuestos de mayor afinidad fueron Phe439 y Thr542 tanto de las cadenas A como B de ABCG2. Sin embargo, gran parte de las interacciones fueron hidrofóbicas, en menor cuantía puentes de hidrogeno y ocasionalmente pi-stacking a una distancia ~3Å. Por otro lado, los ligandos de menor afinidad presentaron un patrón similar de interacciones; no obstante, se observó escasos conjugados de interacción en cadenas A y B en simultaneo (Anexo 1). Adicionalmente, se evidenció que algunos complejos formaron interacción con residuos de importancia biológica para la cavidad 1 de ABCG2 como el Complex-100 (Phe439 cadena B), complex-117 (Asn436 cadena A), complex-201 (Phe439 cadena A), complex-287 (Phe439 cadena B) y complex-323 (Asn436 cadena A).

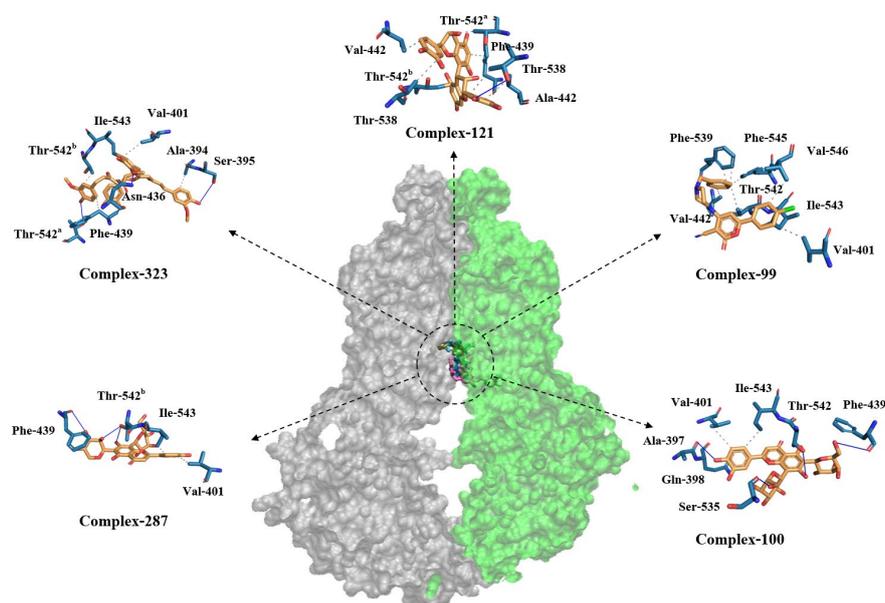
**Tabla 1.** Características de los metabolitos naturales en su interacción con ABCG2

Planta	Metabolito	Familia química	$\Delta G_{ibb}$ s	Kd (nM)	Complejo L-R
Uña de gato - <i>Uncaria tomentosa</i>	Procyanidin B4	Proantocianidina	-11.1	6.82	Complex-122
Uña de gato - <i>Uncaria tomentosa</i>	Procyanidin B5	Proantocianidina	-10.9	9.58	Complex-123
Hierba santa - <i>cestrum auriculatum</i>	Rutin	Flavonol	-10.7	13.44	Complex-202
Uña de gato - <i>Uncaria tomentosa</i>	Rutin	Flavonol	-10.5	18.86	Complex-117
Hierba santa - <i>cestrum auriculatum</i>	Nicotiflorin	Flavonol	-10.5	18.86	Complex-201
Aguaje - <i>Mauritia flexuosa</i>	isoschaftoside	Flavona	-10.5	18.86	Complex-287
Molle - <i>Schinus molle</i>	6-(4-Chlorophenyl)-3-cyano-4-(N-benzylpiperazino)-2H-pyran-2-one	Alcaloide	-10.5	18.86	Complex-99
Uña de gato - <i>Uncaria tomentosa</i>	Procyanidin B3	Proantocianidina	-10.4	24.82	Complex-121
Molle - <i>Schinus molle</i>	Lucenin 2	Flavanona Derivado	-10.3	26.46	Complex-100
Turmeric - <i>Curcuma longa</i>	Curcumin Dimer 3	fenolico	-10.3	26.46	Complex-323

Complejo L-R, Complejo ligando receptor



**Figura 2.** Metabolitos naturales con mayor energía libre de unión a residuos de la cavidad 1 de ABCG2. Complex-122 (Procyanidin B4 de Uña de gato), Complex-123 (Procyanidin B5 de Uña de gato), Complex-202 (Rutin de Hierba santa), Complex-117 (Rutin de Uña de gato), Complex-201 (Nicotiflorin de Hierba santa)



**Figura 3.** Metabolitos naturales con menor energía libre de unión a residuos de la cavidad 1 de ABCG2. Complex-287 (Isoschaftoside de Aguaje), Complex-99 (Alcaloide\* de Uña de gato), Complex-121 (Procyanidin B3 de Uña de gato), Complex-100 (Lucenin 2 de Molle), Complex-323 (Curcumin Dimer 3 de Turmeric)

\*6-(4-Chlorophenyl)-3-cyano-4-(N-benzylpiperazino)-2H-pyran-2-one

## 5. Discusión

Las enfermedades neoplásicas son un conjunto de patologías complejas de alta morbimortalidad y coste para el sistema de salud (21). Los intrincados mecanismos de supervivencia por parte de este grupo de patologías, implican el desarrollo de estrategias para evitar la muerte y el efecto citotóxico quimioterápico (11). El transportador ABCG2 es parte de un extenso grupo de proteínas transportadoras de xenobióticos que usan energía química y por lo tanto potenciales blancos farmacológico para el desarrollo de agentes antineoplásicos (12–15).

En el presente estudio se realizó un virtual screening de fitoquímicos de origen peruano para determinar sustancias que puedan inhibir el transportador ABCG2. Se evidenció que metabolitos secundarios de *Uncaria tomentosa*, *Cestrum auriculatum*, *Mauritia flexuosa* y *Schinus molle* presentaron moléculas con alta afinidad al transportador ABCG2. En este sentido algunas investigaciones *in-vitro* sobre *Uncaria tomentosa* demostraron actividad antiproliferativa, proapoptótica y antimutagénica a través de vías relacionadas a caspasa3 y TNF-alfa; sin embargo, gran parte de los trabajos fueron enfocados a alcaloides oxindólicos, por lo que es de interés seguir investigando actividad antitumoral *in-vitro* de Procyanidinas de esta planta, como los reportados en el presente estudio (22–25). Por otro lado, existe muy escasa información sobre actividad antitumoral de *Cestrum auriculatum* tanto sobre mecanismos de acción, así como metabolitos con actividad específica (26).

Las características fisicoquímicas requeridas para el desarrollo de inhibidores de transportadores de la familia ABCG2 son principalmente moléculas con bajo grado de libertad planas, policíclicas y medianamente lipofílicas, dado que estas características les permite fluir a través de membranas anfipáticas hasta la cavidad 1 con actividad biológica; a la vez que, permite una restricción estérica en toda la cavidad formada por las subunidades A y B, impidiendo el ingreso de otras moléculas como quimioterápicos y por lo tanto permitiendo su concentración celular en rangos adecuados de actividad antitumoral (3). Estas tres características fueron evidenciadas en los compuestos naturales estudiados (Anexo 2).

El perfil biológico de inhibidores conocidos para ABCG2 ha demostrado tener mejor afinidad, aumento de unión a diana terapéutica, a coste de un aumento en la toxicidad tisular órgano específica por parte de los mismos (3,15). Por otro lado, algunos metabolitos como los curcuminoides, inhibidores naturales conocidos de ABCG2, son compuestos relativamente seguros. Sin embargo, su perfil farmacocinético es una clara desventaja a la hora plantear probables candidatos de fármacos en seres humanos (27). Contar con inhibidores de ABCG2 podría contribuir en optimizar la quimioterapia de tumores que sobreexpresan este transportador como mecanismo de resistencia, sobre todo en células madre oncológicas que perpetúan y complican el proceso de tratamiento y recuperación en enfermedades neoplásicas (28). Los metabolitos encontrados en el presente estudio podrían plantear un nuevo enfoque en el desarrollo de inhibidores para transportadores ABCG2. Dado que muchos de ellos muestran un perfil favorable de inhibición, se requiere una post validación *in-vitro* para su optimización como compuestos líder y posteriores ensayos de farmacocinética/farmacodinamia (PK/PD).

Algunas limitantes del estudio fueron la capacidad de los supercomputadores solicitados para alcanzar mayor cobertura de screening, por otro lado, los metabolitos utilizados se limitaron a la documentación de los perfiles fitoquímicos reportados a la fecha; pudiendo existir metabolitos no evaluados en las plantas estudiadas.

Concluimos que existen metabolitos con capacidad inhibitoria *in-silico* de ABCG2 en plantas nativas de Perú, principalmente *Uncaria tomentosa*, *Cestrum auriculatum*, *Mauritia flexuosa* y *Schinus molle* dentro de las plantas estudiadas, las cuales requieren validación *in-vitro* en ensayos pre-clínicos para su desarrollo como potenciales tratamientos en pacientes oncológicos.

Conceptualización: Ricardo Rojas-Humpire

Curación de datos: Ricardo Rojas-Humpire

Análisis formal: Ricardo Rojas-Humpire

Metodología: Ricardo Rojas-Humpire

Software: Ricardo Rojas-Humpire

Supervisión: Salomon Huancahuire-Vega

Validación: Salomon Huancahuire-Vega

Redacción del borrador original: Salomon Huancahuire-Vega y Ricardo Rojas-Humpire

Redacción, revisión y edición: Salomon Huancahuire-Vega y Ricardo Rojas-Humpire

## 6. Referencias bibliográficas

1. Taylor NMI, Manolaridis I, Jackson SM, Kowal J, Stahlberg H, Locher KP. Structure of the human multidrug transporter ABCG2. *Nature* [Internet]. 2017;546(7659):504–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nature22345>
2. Eckenstaler R, Benndorf RA. 3D structure of the transporter ABCG2—What's new? *Br J Pharmacol*. 2020;177(7):1485–96.
3. Jackson SM, Manolaridis I, Kowal J, Zechner M, Taylor NMI, Bause M, et al. Structural basis of small-molecule inhibition of human multidrug transporter ABCG2. *Nat Struct Mol Biol* [Internet]. 2018;25(4):333–40. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41594-018-0049-1>
4. Stacy AE, Jansson PJ, Richardson DR. Molecular Pharmacology of ABCG2 and its role in chemoresistance. *Mol Pharmacol*. 2013;84(5):655–69.
5. Khunweeraphong N, Szöllősi D, Stockner T, Kuchler K. The ABCG2 multidrug transporter is a pump gated by a valve and an extracellular lid. *Nat Commun*. 2019;10(1):1–14.
6. Orlando BJ, Liao M. ABCG2 transports anticancer drugs via a closed-to-open switch. *Nat Commun* [Internet]. 2020;11(1):1–11. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41467-020-16155-2>
7. Westover D, Li F. New trends for overcoming ABCG2/BCRP-mediated resistance to cancer therapies. *J Exp Clin Cancer Res* [Internet]. 2015 Dec 30 [cited 2023 Mar 30];34(1):159. Available from: <https://jeccr.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13046-015-0275-x>
8. Hoang T, Xu R, Schiller JH, Bonomi P, Johnson DH. Clinical model to predict survival in chemo-naïve patients with advanced non-small-cell lung cancer treated with third-generation chemotherapy regimens based on Eastern Cooperative Oncology Group data. *J Clin Oncol*. 2005 Jan 1;23(1):175–83.
9. Seruga B, Tannock IF. Chemotherapy-based treatment for castration-resistant prostate cancer. *J Clin Oncol*. 2011 Sep 20;29(27):3686–94.

10. Thigpen JT, Blessing JA, Ball H, Hummel SJ, Barrett RJ. Phase II trial of paclitaxel in patients with progressive ovarian carcinoma after platinum-based chemotherapy: a Gynecologic Oncology Group study. <https://doi.org/10.1200/JCO19941291748>. 2016 Sep 21;12(9):1748–53.
11. Robey RW, Polgar O, Deeken J, To KW, Bates SE. ABCG2: determining its relevance in clinical drug resistance. *Cancer Metastasis Rev* 2007 261 [Internet]. 2007 Feb 24 [cited 2023 Mar 30];26(1):39–57. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10555-007-9042-6>
12. Miyata H, Takada T, Toyoda Y, Matsuo H, Ichida K, Suzuki H. Identification of febuxostat as a new strong ABCG2 inhibitor: Potential applications and risks in clinical situations. *Front Pharmacol*. 2016;7(DEC):1–12.
13. Noguchi K, Katayama K, Sugimoto Y. Human ABC transporter ABCG2/BCRP expression in chemoresistance: Basic and clinical perspectives for molecular cancer therapeutics. *Pharmgenomics Pers Med*. 2014;7(1):53–64.
14. Shukla S, Wu CP, Ambudkar S V. Development of inhibitors of ATP-binding cassette drug transporters - present status and challenges. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2008;4(2):205–23.
15. Toyoda Y, Takada T, Suzuki H. Inhibitors of human ABCG2: From technical background to recent updates with clinical implications. *Front Pharmacol*. 2019;10(MAR):1–9.
16. An G, Morris ME. Efflux transporters in cancer resistance: Molecular and functional characterization of breast cancer resistance protein. *Drug Efflux Pumps Cancer Resist Pathways From Mol Recognit Charact to Possible Inhib Strateg Chemother*. 2020 Jan 1;67–96.
17. Kokubo S, Ohnuma S, Murakami M, Kikuchi H, Funayama S, Suzuki H, et al. A phenylfurocoumarin derivative reverses ABCG2-mediated multidrug resistance in vitro and in vivo. *Int J Mol Sci*. 2021;22(22).
18. Zhang Y, Luo M, Wu P, Wu S, Lee TY, Bai C. Application of Computational Biology and Artificial Intelligence in Drug Design. *Int J Mol Sci* 2022, Vol 23, Page 13568 [Internet]. 2022 Nov 5 [cited 2023 Mar 30];23(21):13568. Available from: <https://www.mdpi.com/1422-0067/23/21/13568/htm>
19. Trott O, Olson AJ. AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *J Comput Chem* [Internet]. 2010 Jan 30 [cited 2023 Mar 30];31(2):455–61. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jcc.21334>
20. Salentin S, Schreiber S, Haupt VJ, Adasme MF, Schroeder M. PLIP: fully automated protein–ligand interaction profiler. *Nucleic Acids Res* [Internet]. 2015 Jul 1 [cited 2023 Mar 30];43(W1):W443–7. Available from: <https://academic.oup.com/nar/article/43/W1/W443/2467865>
21. Ward ZJ, Scott AM, Hricak H, Atun R. Global costs, health benefits, and

- economic benefits of scaling up treatment and imaging modalities for survival of 11 cancers: a simulation-based analysis. *Lancet Oncol*. 2021 Mar 1;22(3):341–50.
22. De Martino L, Luis J, Martinot S, Franceschelli S, Leone A, Pizza C, et al. Proapoptotic effect of *Uncaria tomentosa* extracts. *J Ethnopharmacol*. 2006;107:91–4.
  23. Sandoval M, Charbonnet RM, Okuhama NN, Roberts J, Krenova Z, Trentacosti AM, et al. Cat's claw inhibits TNF $\alpha$  production and scavenges free radicals: role in cytoprotection. *Free Radic Biol Med* [Internet]. 2000 Jul 1 [cited 2023 Mar 30];29(1):71–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10962207/>
  24. Wurm M, Kacani L, Laus G, Keplinger K, Dierich MP. Pentacyclic oxindole alkaloids from *Uncaria tomentosa* induce human endothelial cells to release a lymphocyte-proliferation-regulating factor. *Planta Med* [Internet]. 1998 [cited 2023 Mar 30];64(8):701–4. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9933988/>
  25. Aquino R, de Feo V, de Simone F, Pizza C, Cirino G. Plant metabolites. New compounds and antiinflammatory activity of *uncaria tomentosa*. *J Nat Prod* [Internet]. 1991 Mar 1 [cited 2023 Mar 30];54(2):453–9. Available from: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/np50074a016>
  26. Manzoor A, Qaisar U, Parveen Z, Siddique S, Sardar AA, Ishaq N. In vitro anticancer and antioxidant potential of *Cestrum* species. *Pak J Pharm Sci* [Internet]. 2020 Jul 1 [cited 2023 Mar 30];33(4):1535–41. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33583784/>
  27. Vareed SK, Kakarala M, Ruffin MT, Crowell JA, Normolle DP, Djuric Z, et al. Pharmacokinetics of Curcumin Conjugate Metabolites in Healthy Human Subjects. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* [Internet]. 2008 Jun 1 [cited 2023 Mar 30];17(6):1411–7. Available from: <https://aacrjournals.org/cebp/article/17/6/1411/177558/Pharmacokinetics-of-Curcumin-Conjugate-Metabolites>
  28. Schulenburg A, Ulrich-Pur H, Thurnher D, Erovcic B, Florian S, Sperr WH, et al. Neoplastic stem cells: A novel therapeutic target in clinical oncology. *Cancer* [Internet]. 2006 Nov 15 [cited 2023 Mar 30];107(10):2512–20. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/cncr.22277>

**Anexo 1. Características del tipo enlace y residuos de los complejos ligando receptor formados durante el virtual screening**

Chain	Residuo	Distancia (Å)	Tipo	Complex
A	Val401*	3.69	Hidrofobico	99
B	Phe439*	2.45	Hidrofobico	99
B	Phe439*	2.22	Hidrofobico	99
B	Val442	3.39	Hidrofobico	99
B	Thr542	3.51	Hidrofobico	99
B	Thr542	3.16	Hidrofobico	99
B	Ile543	1.77	Hidrofobico	99
B	Phe545	3.84	Hidrofobico	99
B	Val546	3.48	Hidrofobico	99
A	Val401*	3.83	Hidrofobico	100
B	Ile543	3.10	Hidrofobico	100
A	Ala397*	3.16	H-bond	100
A	Gln398	3.47	H-bond	100
B	Phe439*	3.52	H-bond	100
B	Ser535	2.52	H-bond	100
B	Thr542	3.03	H-bond	100
A	Ala397*	3.44	Hidrofobico	117
A	Val401*	3.18	Hidrofobico	117
A	Phe439*	3.05	Hidrofobico	117
A	Thr542	2.93	Hidrofobico	117
B	Thr542	3.34	Hidrofobico	117
B	Ile543	1.90	Hidrofobico	117
A	Asn436*	1.97	H-bond	117
A	Ser440	3.43	H-bond	117
B	Thr542	2.83	H-bond	117
B	Thr542	2.90	H-bond	117

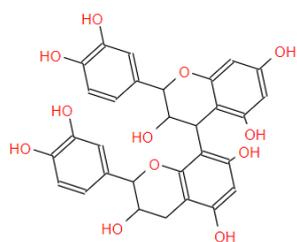
A	Phe439*	2.93	Hidrofobico	121
A	Val442	3.70	Hidrofobico	121
B	Val442	2.52	Hidrofobico	121
A	Thr538	3.77	Hidrofobico	121
B	Thr538	3.94	Hidrofobico	121
A	Thr542	2.59	Hidrofobico	121
B	Thr542	2.49	Hidrofobico	121
A	Thr538	3.25	H-bond	121
A	Thr538	3.55	H-bond	121
A	Phe439*	3.24	Hidrofobico	122
A	Phe439*	3.46	Hidrofobico	122
A	Thr538	3.63	Hidrofobico	122
B	Thr538	3.80	Hidrofobico	122
B	Thr542	1.96	Hidrofobico	122
B	Thr538	3.17	H-bond	122
A	Thr542	3.74	H-bond	122
B	Thr542	2.40	H-bond	122
A	Phe439*	3.21	Hidrofobico	123
A	Phe439*	2.54	Hidrofobico	123
B	Leu539*	2.05	Hidrofobico	123
B	Thr542	2.59	Hidrofobico	123
B	Thr542	3.48	Hidrofobico	123
B	Ile543	3.50	Hidrofobico	123
B	Val546	3.62	Hidrofobico	123
A	Thr542	3.25	H-bond	123
B	Thr542	3.22	H-bond	123
A	Phe439*	2.48	H-bond	201
A	Ser443	3.20	H-bond	201

B	Thr542	3.12	H-bond	201
B	Thr542	3.22	H-bond	201
B	Phe439*	4.95	Pi-stacking	201
A	Val401*	3.52	Hidrofobico	202
A	Phe439*	3.28	Hidrofobico	202
A	Phe439*	3.05	Hidrofobico	202
B	Thr542	2.49	Hidrofobico	202
B	Val546	3.54	Hidrofobico	202
A	Ala394	3.08	H-bond	202
A	Gln398	2.96	H-bond	202
B	Thr542	2.47	H-bond	202
B	Thr542	2.77	H-bond	202
A	Val401*	3.37	Hidrofobico	287
B	Ile543	2.52	Hidrofobico	287
B	Phe439*	3.05	H-bond	287
B	Thr542	2.51	H-bond	287
B	Thr542	3.55	H-bond	287
A	Ala394	3.15	Hidrofobico	323
A	Val401*	3.57	Hidrofobico	323
A	Phe439*	3.47	Hidrofobico	323
B	Thr542	2.39	Hidrofobico	323
B	Ile543	1.77	Hidrofobico	323
A	Ser395	3.29	H-bond	323
A	Asn436*	2.44	H-bond	323
A	Thr542	2.87	H-bond	323

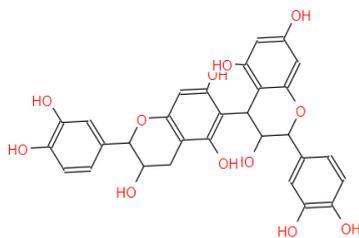
---

\*Aminoácidos de importancia biológica para la activación de ABCG2

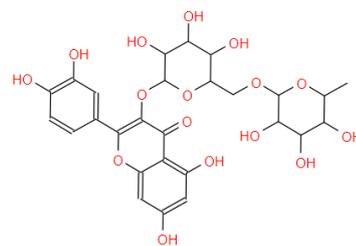
## Anexo 2. Estructuras 2D de los mejores compuestos con afinidad a ABCG2



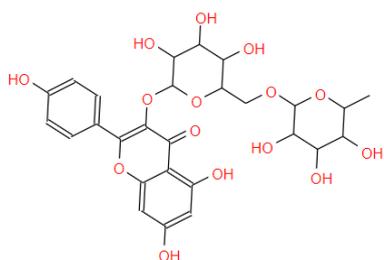
Procyanidin B4



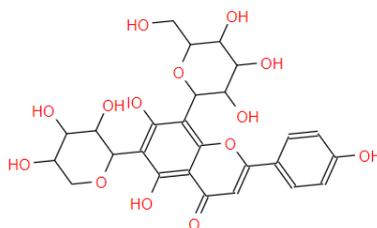
Procyanidin B5



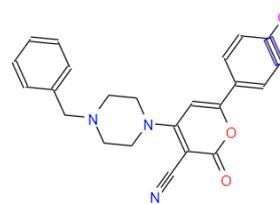
Rutin



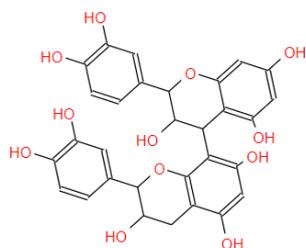
Nicotiflorin



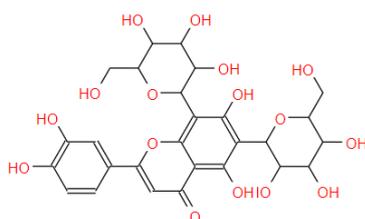
isoschaftoside



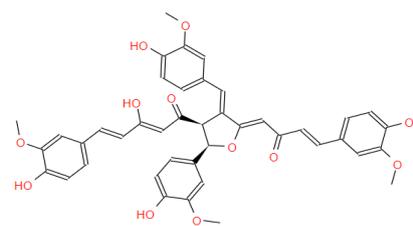
\*\*\*



Procyanidin B3



Lucenin 2



Curcumin Dimer 3

\*\*\*6-(4-Chlorophenyl)-3-cyano-4-(N-benzylpiperazino)-2H-pyran-2-one

## Anexo 3. Sumisión del artículo



Revista Cubana de  
**Medicina Natural y Tradicional**



[Inicio](#) > [Usuario/a](#) > [Autor/a](#) > **Envíos activos**

[ACTIVO/A](#) | [ARCHIVAR](#)

DD-MM	ID.	ENVIARSECCAUTORES/AS	TÍTULO	ESTADO
344 04-25	ART	Rojas-Humpire, Huanchaure-Vega	VIRTUAL SCREENING DE COMPUESTOS PERUANOS DE ORIGEN...	Asignación en espera

[Enviar artículo](#)

**INFORMACIÓN**

- Para lectores/as
- Para autores
- Para revisores

### [Rev Cubana MNT] Acuse de recibo de envío Recibidos x

**MsC.Joaquina Gómez Peire** <peire@infomed.sld.cu>  
para mí ▼

Master Ricardo Rojas-Humpire:

Gracias por enviar el manuscrito, "Virtual screening de compuestos peruanos de origen natural para inhibir el transportador de resistencia a múltiples medicamentos ABCG2" a Revista Cubana de Medicina Natural y Tradicional. Con nuestro sistema de gestión de revistas en línea, podrá iniciar sesión en el sitio web de la revista y hacer un seguimiento de su progreso a través del proceso editorial:

URL del manuscrito:

<https://revmnt.sld.cu/index.php/rmnt/author/submission/344>

Nombre de usuario/a: ricardo

En caso de dudas, contacte conmigo. Gracias por elegir esta revista para publicar su trabajo.

MsC.Joaquina Gómez Peire  
Revista Cubana de Medicina Natural y Tradicional

---

Revista Cubana de Medicina Natural y Tradicional  
<http://revmnt.sld.cu/index.php/rmnt>

## Anexo 4. Aprobación de comité de ética



*Una Institución Adventista*

Lima, Ñaña, 04 de setiembre de 2021

### EL COMITÉ DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

#### CONSTA

Que el proyecto de investigación de **Ricardo Josué Rojas Humpire**, identificado con DNI No. **47489506**, su asesor el **Dr. Salomón Huanchuire Vega**, identificado con DNI No. **41407030**, con el título: **“Docking y dinámica molecular de compuestos peruanos de origen natural para inhibir el transportador de resistencia a múltiples medicamentos ABCG2”**, fue evaluado y aprobado por el Comité de Ética de Investigación de la Universidad Peruana Unión, considerando su calidad científica, consideración del bienestar de sus participantes, y conformidad con los estándares de la ética establecidas en el Código de ética para la Investigación de la Universidad Peruana Unión.

Para mantener la aprobación del Comité de Ética, se tiene que cumplir con los siguientes requisitos:

- 1) Cada participante debe dar consentimiento informado. En el caso de menores de edad, por lo menos uno de sus padres o guardianes debe registrar su consentimiento informado y el menor de edad debe registrar su asentimiento informado, en caso de trabajos prospectivos. En caso de trabajos retrospectivos contar con la carta de autorización de la institución.

Los resultados de este proyecto puedan ser publicados con referencia a aprobación Número 2021-CE-FCS - UPeU-00312.



**Mg. María Magdalena Díaz Orihuel**  
Presidente  
Comité de Ética de Investigación



**Psic. Justas Trinidad Ticse**  
Secretario  
Comité de Ética de Investigación