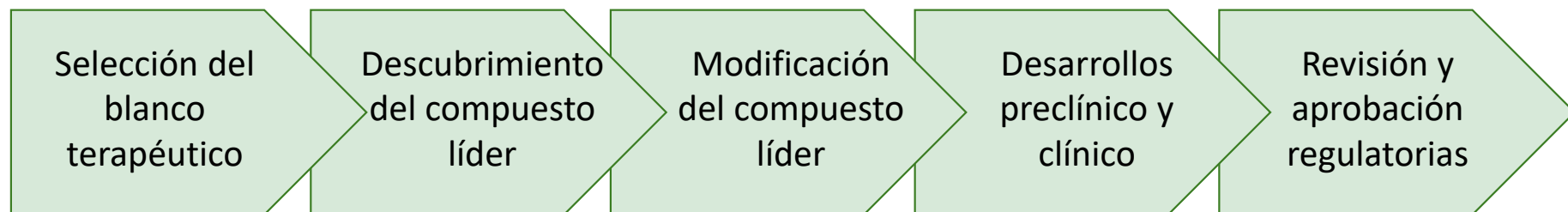


INTRODUCCIÓN

Etapas del diseño de fármacos moderno



INTRODUCCIÓN

Identificación y validación de blancos



Validación de la diana (blanco u objetivo)

Existen varias herramientas para descubrir, o al menos formular hipótesis, sobre el papel de posibles dianas farmacológicas en una enfermedad.

Sin embargo, muchos investigadores no consideran que una diana está validada hasta que su papel en la enfermedad humana se demuestra en ensayos clínicos.

Se estima que existen solo 324 dianas farmacológicas confirmadas para todos los fármacos aprobados (266 son proteínas derivadas del genoma humano; el resto son dianas de patógenos) y solo 1357 fármacos específicos, 1204 moléculas pequeñas y 166 biológicos. De las moléculas pequeñas, solo 803 pueden administrarse por vía oral.

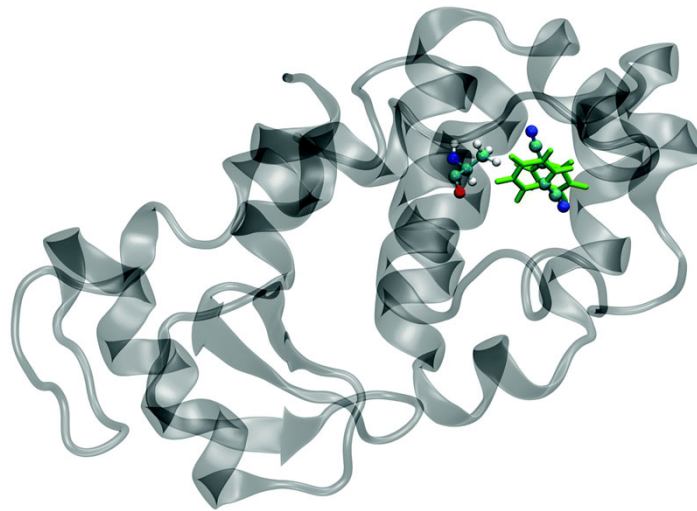


Validación de la diana (blanco u objetivo)

Un enfoque para identificar dianas es comparar la **composición genética** de un gran número de pacientes con la enfermedad con la de un gran número de pacientes sanos, e identificar los genes, y las proteínas correspondientes, que son consistentemente diferentes en ambos grupos.

Dado que existen aproximadamente 20,500 genes en el genoma humano, hay muchos sitios potenciales para mutaciones que pueden conducir a una enfermedad. Sin embargo, solo alrededor del 7–8% de los genes humanos se han asociado explícitamente con alguna enfermedad.

A veces, una molécula pequeña que modifica de manera específica la función de una diana puede servir para establecer el papel de esa diana, incluso si la molécula no es adecuada como fármaco.



DISEÑO RACIONAL DE FÁRMACOS

Identificación de la diana (blanco u objetivo)

El enfoque más simple es usar un **objetivo ya validado en la clínica** (17% probabilidad de éxito), en lugar de intentar descubrir uno nuevo (3%).

Usar objetivos establecidos puede llevar a medicamentos *me-too* (fármacos estructuralmente similares a otros y que actúan por el mismo mecanismo de acción), i.e., a más fármacos de la misma clase.



Objetivos novedosos pueden conducir a medicamentos con propiedades nuevas y que puedan usarse para tratar enfermedades que antes no se trataban.

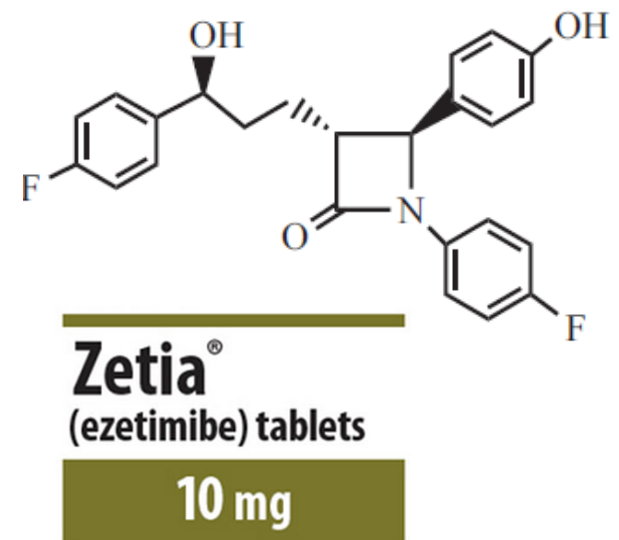


Identificación de la diana (blanco u objetivo)

El enfoque basado en objetivos puede llevar a que, cuando el fármaco está ya en ensayos clínicos o en el mercado, se descubre que su mecanismo de acción es diferente al diseñado.

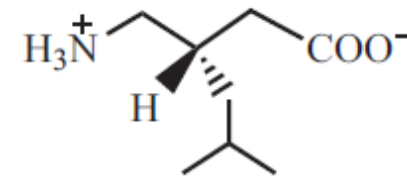
Ejemplo 1: El fármaco ezetimiba (Zetia), para reducir el colesterol, fue diseñado como inhibidor de la acil-coenzima A colesterol aciltransferasa (ACAT), la enzima que esterifica el colesterol y que es necesaria para su absorción intestinal (la inhibición de la ACAT debería reducir la absorción de colesterol).

Su actividad *in vivo* no correlaciona con la inhibición de ACAT *in vitro*. Ezetimiba inhibe el transporte de colesterol a través de la pared intestinal en lugar de inhibir la ACAT.



Identificación de la diana (blanco u objetivo)

Ejemplo 2: La pregabalina (Lyrica), fármaco para el tratamiento de la epilepsia, el dolor neuropático, la fibromialgia y el trastorno de ansiedad generalizada, se encontró que era un activador de la enzima glutamato descarboxilasa *in vitro*, y se pensó que eso era responsable de su actividad anticonvulsiva. Luego se descubrió que su mecanismo de acción era el antagonismo de la subunidad $\alpha 2\delta$ de un canal de calcio.



LYRICA®
Pregabalina
Cápsula
50 mg

Identificación de la diana (blanco u objetivo)

Otro enfoque es eliminar de forma selectiva la función de una proteína y observar la consecuencia en una vía bioquímica aislada o en un animal completo. Uno de los métodos para lograr esto es la eliminación de genes (*gene knockout*).

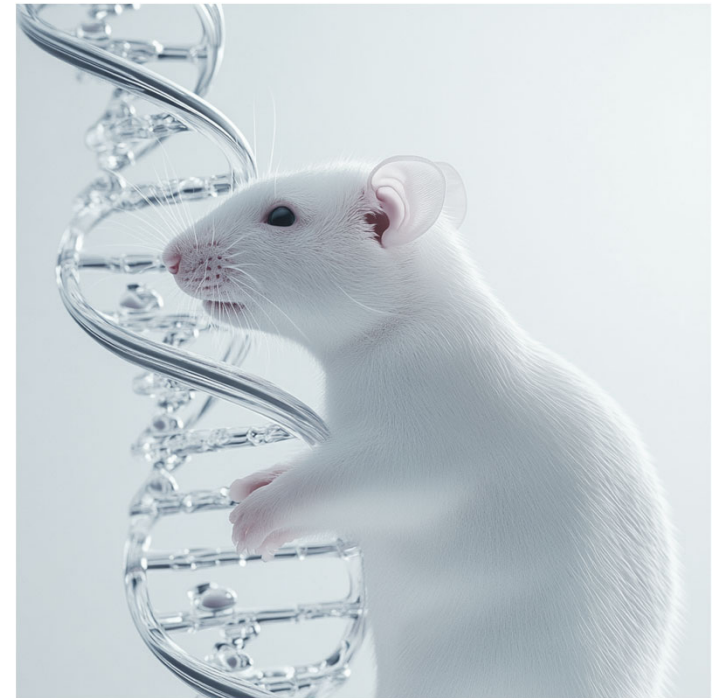
El **gene knockout** (KO) es una estrategia experimental para **inactivar de forma específica un gen** con el fin de estudiar su función biológica mediante la observación de los cambios fenotípicos que se producen en ausencia de su producto (ARN o proteína).

Principio

- El objetivo es eliminar o interrumpir la secuencia codificante de un gen, de forma que no se produzca una proteína funcional.
- Esto permite establecer una relación causal entre el gen y un fenotipo, ya sea en células, tejidos u organismos completos.

Métodos principales de *knockout* (KO)

- a) **KO convencional (constitutivo):** Se modifica la línea germinal de un organismo (p. ej., ratón) para que todas sus células carezcan del gen desde el desarrollo embrionario.
- b) **KO condicional:** El gen se inactiva solo en un tejido específico o en un momento concreto.
- c) **KO inducible:** La inactivación se controla mediante estímulos externos (fármacos, luz, temperatura).
- d) **Edición génica con CRISPR/Cas:** Introduce cortes de doble cadena en regiones críticas del gen.



Knockout (KO)

Aplicaciones

- **Validación de dianas farmacológicas:** demostrar que la pérdida de la diana altera el fenotipo relacionado con la enfermedad.
- **Estudio de mecanismos moleculares:** asignar funciones a genes desconocidos.
- **Modelos de enfermedades humanas:** recrear mutaciones de pérdida de función.

Limitaciones y consideraciones

- **Efectos compensatorios:** otros genes pueden suplir la función perdida.
- **Efectos fuera del objetivo (*off-target*):** sobre todo en técnicas de edición génica.
- **Letalidad embrionaria:** puede requerir estrategias condicionales.
- **Diferencias especie-específicas:** el fenotipo en modelo animal puede no reflejar el humano.

DISEÑO RACIONAL DE FÁRMACOS

Alternativas al descubrimiento de fármacos basado en dianas

Las enfermedades pueden considerarse como anomalías a nivel mecanicista, por ejemplo, en un gen, un receptor o una enzima. Esta anomalía puede dar lugar a un problema funcional, por ejemplo, una función anormal de las mitocondrias, que provoca un problema funcional en un órgano. Estas anomalías producen síntomas fisiológicos de enfermedades.

Por lo tanto, los enfoques para el descubrimiento de fármacos pueden basarse en:

el **mecanismo de acción**
(cribado de compuestos por su efecto sobre un objetivo biológico en particular, visto anteriormente)

en la **función** (cribado de compuestos por su capacidad para inducir o normalizar funciones, como procesos de crecimiento, secreción hormonal o apoptosis)

en la **fisiología** (cribado de compuestos en sistemas de órganos aislados o en modelos animales de enfermedad para reducir los síntomas de la enfermedad)

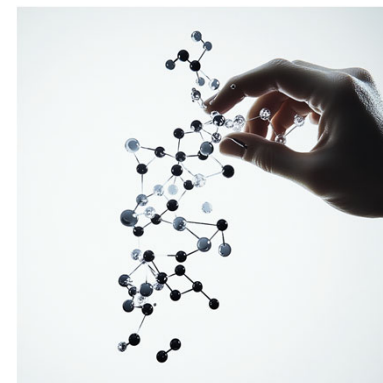
Este último enfoque, que utiliza modelos animales, fue en realidad el primer método de descubrimiento de fármacos, pero ahora se utiliza generalmente como último recurso debido a su baja capacidad de cribado, su elevado coste y la dificultad para identificar el mecanismo de acción.

DISEÑO RACIONAL DE FÁRMACOS

El diseño racional de fármacos moderno generalmente comienza con la identificación de un objetivo biológico cuyas acciones puedan ser susceptibles de mejora o inhibición por un fármaco, lo que llevaría a una respuesta terapéutica beneficiosa.

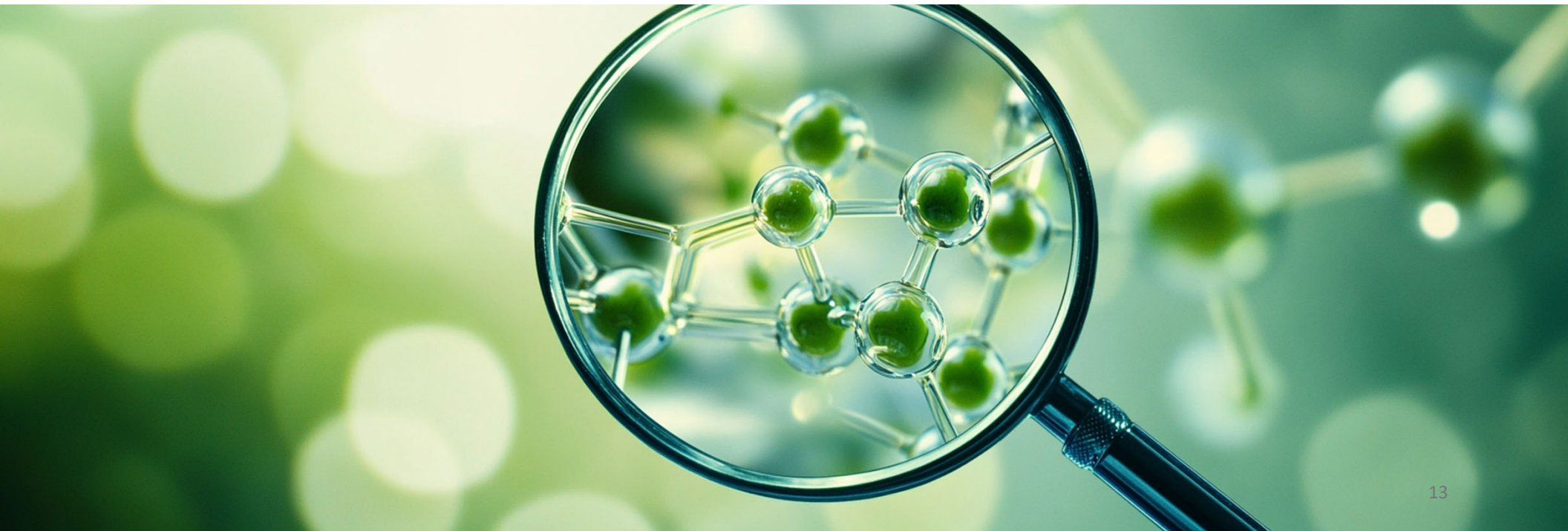
Pero, ¿cómo iniciar la búsqueda de la molécula que tiene el efecto deseado sobre el objetivo? ¿Y qué propiedades, además de ejercer la acción deseada sobre su objetivo, debe tener dicho fármaco?

El enfoque típico es primero identificar uno o más compuestos líderes, es decir, puntos de partida moleculares, cuyas estructuras puedan modificarse (“optimizarse”) para obtener un fármaco adecuado.



INTRODUCCIÓN

Descubrimiento del compuesto líder



En general no se descubren fármacos, se descubren compuestos líder

Un **compuesto líder** típicamente tiene la mayoría o todas las siguientes características:

- Al interactuar con la diana logra el efecto deseado.
- Es susceptible de modificaciones sintéticas para mejorar sus propiedades.
- Posee, o puede modificarse para poseer, propiedades físicas para alcanzar la diana después de administrarse por una vía adecuada.

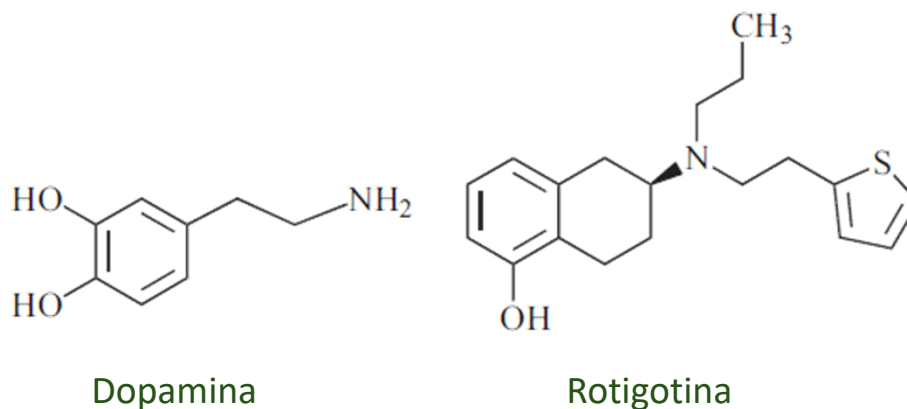
Por ejemplo, la evidencia sugiere que los compuestos con un peso molecular alto (>500), muchos enlaces libremente rotatorios, alta lipofilicidad y demasiados átomos formadores de enlaces de hidrógeno tienen una probabilidad reducida de ser bien absorbidos en el tracto gastrointestinal después de la administración oral.

Es deseable que un compuesto líder de un fármaco que vaya a administrarse por vía oral ya posea las propiedades necesarias o sea susceptible de modificarse para incorporarlas.

Fuentes comunes de compuestos líderes

El ligando o sustrato natural para el objetivo de interés.

Ejemplo: la dopamina es el ligando natural para la familia de receptores de dopamina. Aumentar las concentraciones de dopamina es un objetivo importante para el tratamiento de la enfermedad de Parkinson. Por lo tanto, la dopamina fue el compuesto líder para el descubrimiento de la rotigotina, un fármaco utilizado para el tratamiento de la enfermedad de Parkinson y el síndrome de piernas inquietas.

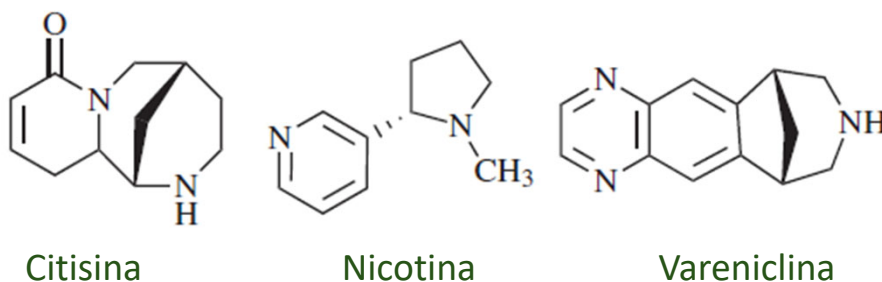


Fuentes comunes de compuestos líderes

Otra sustancia ya conocida por interactuar con el objetivo de interés

Ejemplo: el alcaloide vegetal citisina interactúa con los receptores nicotínicos de acetilcolina. Otro alcaloide vegetal bien conocido, la nicotina, también interactúa con estos receptores. La citisina fue el compuesto líder utilizado por Pfizer para el desarrollo de la vareniclina (Chantix), un fármaco que ayuda a los pacientes a dejar de fumar.

Al comparar las tres estructuras, también se puede imaginar que la estructura de la nicotina inspiró algunas de las ideas para las modificaciones de la citisina en el camino hacia el descubrimiento de la vareniclina.



Fuentes comunes de compuestos líderes

Cribado

Ensayos biológicos para un conjunto amplio de compuestos, que permitan identificar aquellos con la actividad deseada.

Por ejemplo, la activación de los receptores de dopamina provoca un aumento en la concentración de iones Ca^{2+} dentro de la célula. Por lo tanto, la medición de cambios en dicha concentración puede utilizarse para identificar ligandos para estos receptores.

Los compuestos pueden unirse débilmente al objetivo y se conocen como aciertos (*hits*). Los aciertos pueden ser predecesores de los compuestos líderes.

Estos métodos bioquímicos y celulares han reemplazado en gran medida la práctica anterior de cribar compuestos en animales completos o en secciones de tejido.

Fuentes comunes de compuestos líderes

Cribado aleatorio: no se hace sesgo al conjunto de compuestos analizados en base a conocimientos previos sobre el objetivo o sus ligandos conocidos (se criban compuestos al azar). Se requiere un gran número de compuestos.

Cribado dirigido: se aplica algún conocimiento previo para seleccionar los compuestos que se consideran más propensos a interactuar con el objetivo. Se requiere apoyo de los siguientes métodos:

Cribado basado en fragmentos: Se usan, por ejemplo, cristalografía de rayos X o espectrometría de RMN, para identificar moléculas simples (fragmentos) que típicamente poseen una afinidad modesta por un objetivo, con la intención de conectar dos o más de estos fragmentos para crear un compuesto líder útil.

Enfoques computacionales: Conociendo el sitio de unión en el objetivo (por ejemplo, mediante cristalografía de rayos X) o la estructura de varios ligandos conocidos, pueden utilizarse enfoques computacionales que incluyen acoplamiento o dinámicas moleculares para diseñar posibles compuestos líderes.

Enfoques computacionales

Prgharvgh#p bkg 5G

- **Idea central:** comparan moléculas en su forma “plana” (tal como se dibujan en papel), utilizando descriptores que indican la presencia o ausencia de ciertos fragmentos estructurales o propiedades.
- **Descriptores comunes:** fragmentos químicos (ej. grupos funcionales como NC(O)O, heterociclos con azufre, elementos del grupo IIIA), número de anillos, número de heteroátomos, etc.
- **Representación:** a cada molécula se le asigna una “huella digital” binaria (*fingerprint*) compuesta de 1 y 0, según posea o no cada descriptor.
- **Medida de similitud:** se aplica el **coeficiente de Tanimoto (T)**, que cuantifica qué tanto se parecen dos huellas digitales.
- **Limitación:** aunque útiles como primer filtro, la similitud estructural no siempre se traduce en similitud biológica. Por ejemplo, pequeñas modificaciones (como añadir un grupo metileno) pueden transformar un compuesto poco activo en un inhibidor potente o viceversa.

Enfoques computacionales

Prgharvgh#p bkg 5G

El coeficiente de Tanimoto (T) es un índice que se usa frecuentemente para cuantificar la similitud 2D y se define como:

$$T = \frac{N_{11}}{n - N_{00}}$$

donde N_{11} es el número de descriptores para los que los valores de los compuestos comparados son ambos igual a 1, N_{00} es el número de descriptores para los que los valores de ambos compuestos son igual a 0, y n es el número total de descriptores analizados.

Ejemplo:

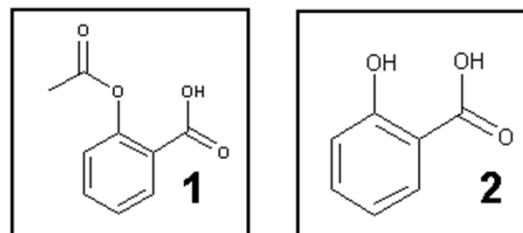
Ghvfufswru	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U
Frp sxhvwr 4	3	4	4	3	3	4	4	3	3	3	4	4	3	4	3	4	4	3
Frp sxhvwr 5	4	4	4	4	3	4	4	3	4	4	4	3	3	4	3	4	3	4

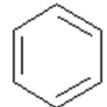
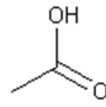
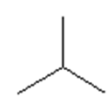
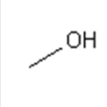
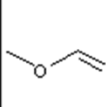
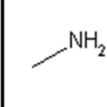
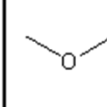
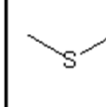
$$T = \frac{7}{18 - 4} = 0.5 \quad \text{Similitud estructural del 50\%}$$

DISEÑO RACIONAL DE FÁRMACOS

Enfoques computacionales

Prgharvgh#p lwxg 5G



1	1	1	0	1	1	0	1	0
2	1	1	0	1	0	0	0	0
								

$$T = \frac{N_{11}}{n - N_{00}}$$

Enfoques computacionales

Principios de la farmacología

Los enfoques computacionales se basan en la representación de la molécula en forma de un código numérico.

Las **ECFP (Extended-Connectivity Fingerprints)** son un tipo de *fingerprint* circular.

Codifican **fragmentos topológicos** de la molécula en función del entorno de cada átomo, y se construyen extendiendo círculos concéntricos alrededor de cada átomo hasta un cierto radio.

ECFP2 → radio = 1

ECFP4 → radio = 2

ECFP6 → radio = 3

El número (2, 4, 6, etc.) indica el diámetro del entorno atómico (en enlaces) que se tiene en cuenta.

Cada átomo recibe un **identificador inicial** basado en sus propiedades:

- tipo de átomo (C, N, O, etc.)
- número de enlaces
- número de hidrógenos implícitos
- carga formal
- si pertenece a un anillo, etc.

Enfoques computacionales

Prgharvgh#v#p lwxg 5G

Una computadora puede determinar rápidamente las huellas digitales 2D (2D *fingerprints*) de cada estructura en una base de datos y, a partir de ellas, calcular rápidamente el nivel de similitud con una molécula de consulta —por ejemplo, un ligando activo conocido— para ayudar a seleccionar un conjunto de compuestos que serán analizados en un cribado real.

Este es un método de búsqueda por similitud ampliamente utilizado en las etapas tempranas del descubrimiento de compuestos líderes (*lead discovery*), cuando se dispone de información limitada sobre las relaciones estructura-actividad (SAR) y sobre la estructura del blanco biológico.

Permite identificar algunos compuestos activos que luego pueden emplearse en enfoques más sofisticados de cribado virtual 3D.



Enfoques computacionales

Próximamente

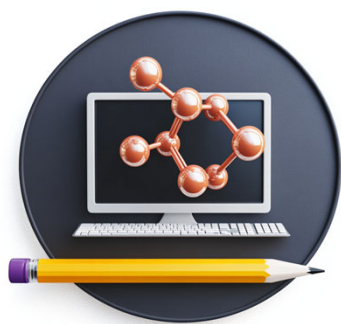
Algunos códigos libres:

CDK (Chemistry Development Kit): biblioteca en Java para tareas de quimioinformática. Incluye funciones que permiten generar huellas moleculares (*fingerprints*) y calcular similitudes entre ellas.

Script simple en Python + librerías de huellas: En GitHub existe un script llamado *tanimoto_similarities* que usa RDKit para calcular matrices de similitud entre moléculas dadas como SMILES.

LiSiCA: software para búsqueda de ligandos que puede hacer comparaciones 2D (y también 3D) entre una molécula de referencia y una base de datos, y usa el coeficiente de Tanimoto para ranking.

EJERCICIO 2



Calcule el coeficiente de Tanimoto según los datos de la siguiente tabla:

$$T = \frac{N_{11}}{n - N_{00}}$$

Descriptor	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R
Compuesto 1	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	1	0	1	1	0
Compuesto 2	1	1	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	1	0

Enfoques computacionales

Prghorvgh#p bwxg 6G

Correlacionan propiedades espaciales del ligando (cómo “se ve” y qué campos físico-químicos genera en 3D) con su actividad biológica.

Pasos típicos:

1. Selección de un conjunto de moléculas activas contra un blanco biológico.
2. Obtención de sus conformaciones tridimensionales y alineamiento según reglas preestablecidas.
3. Cálculo de parámetros espaciales (campos electrostáticos, estéricos, hidrofóbicos, etc.) en torno a las moléculas.
4. Construcción de una función matemática que relacione esos parámetros con la actividad biológica.

Aplicación: permite identificar regiones donde conviene introducir sustituyentes para mejorar la potencia de un fármaco.

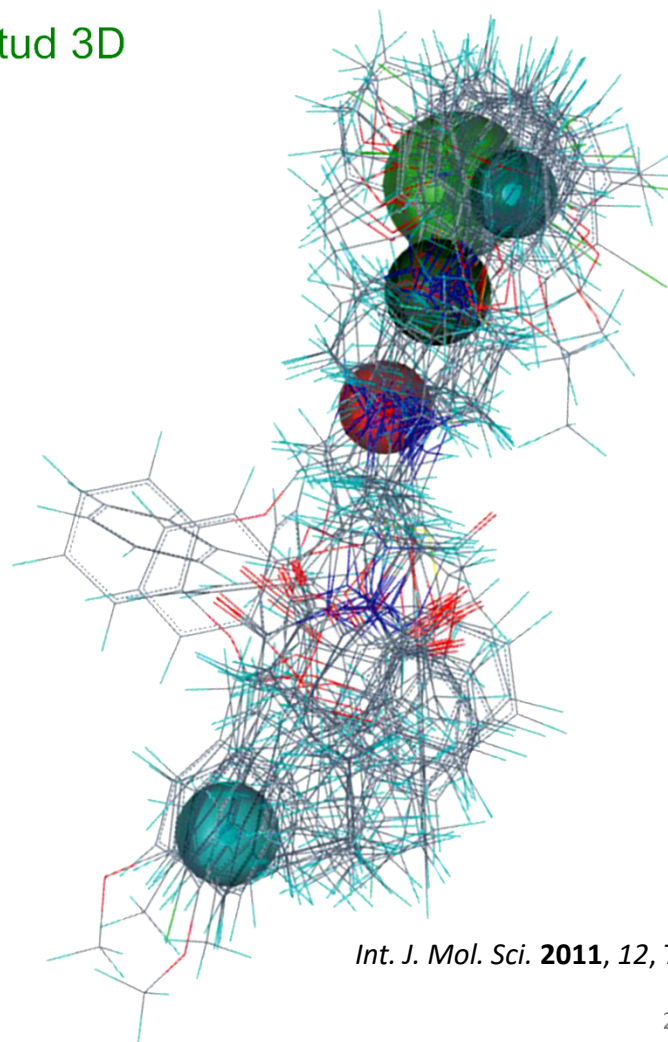
Enfoques computacionales

Modelos de similitud 3D

CoMFA (Comparative Molecular Field Analysis)

La idea central de CoMFA es que la actividad biológica de una molécula depende de cómo sus campos estérico y electrostático interactúan con el blanco biológico.

- En lugar de solo mirar parámetros globales (logP, pKa, etc.), CoMFA analiza cómo las propiedades 3D alrededor de una molécula influyen en la unión al receptor.
- Esto se hace comparando un conjunto de moléculas con actividades conocidas, colocándolas en un mismo marco espacial y cuantificando sus “campos moleculares”.

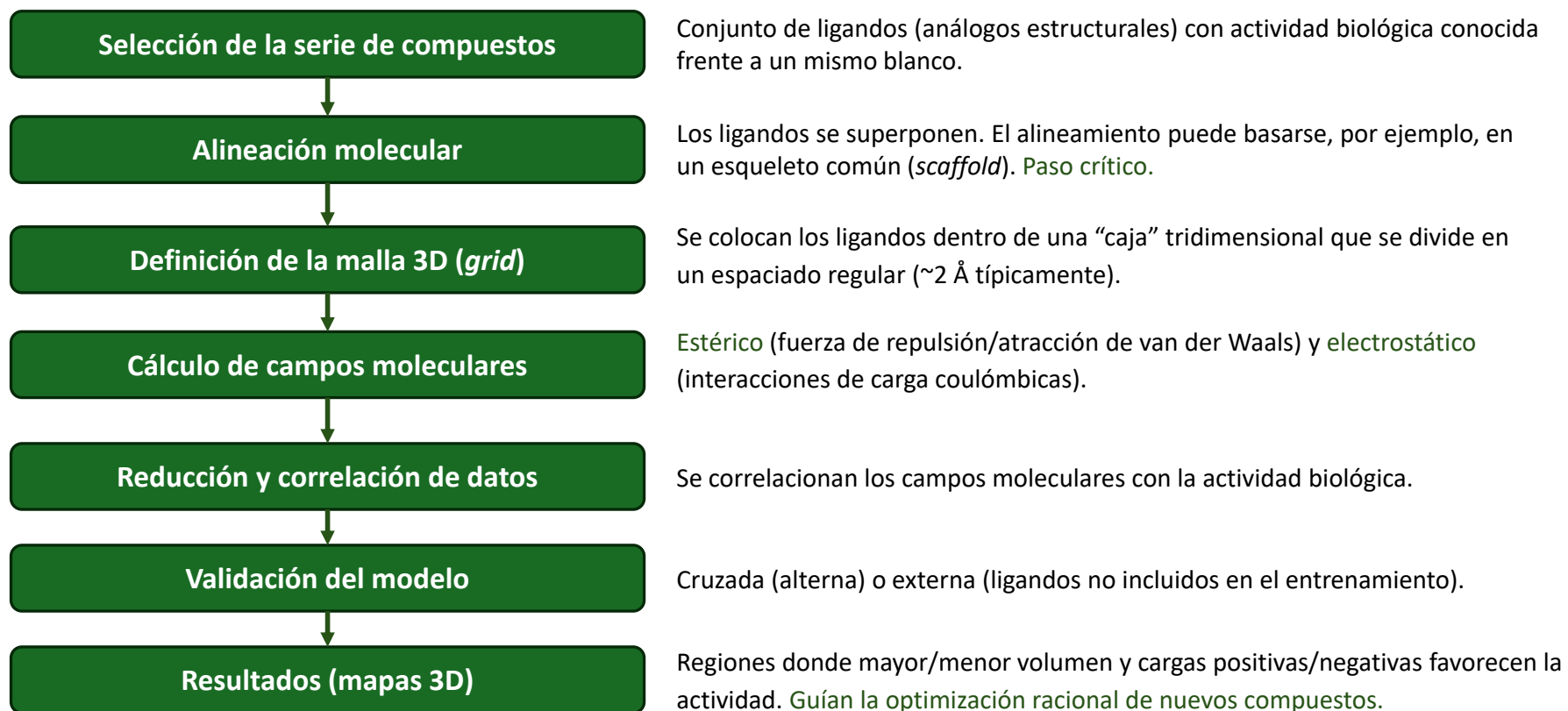


Int. J. Mol. Sci. **2011**, *12*, 7022.

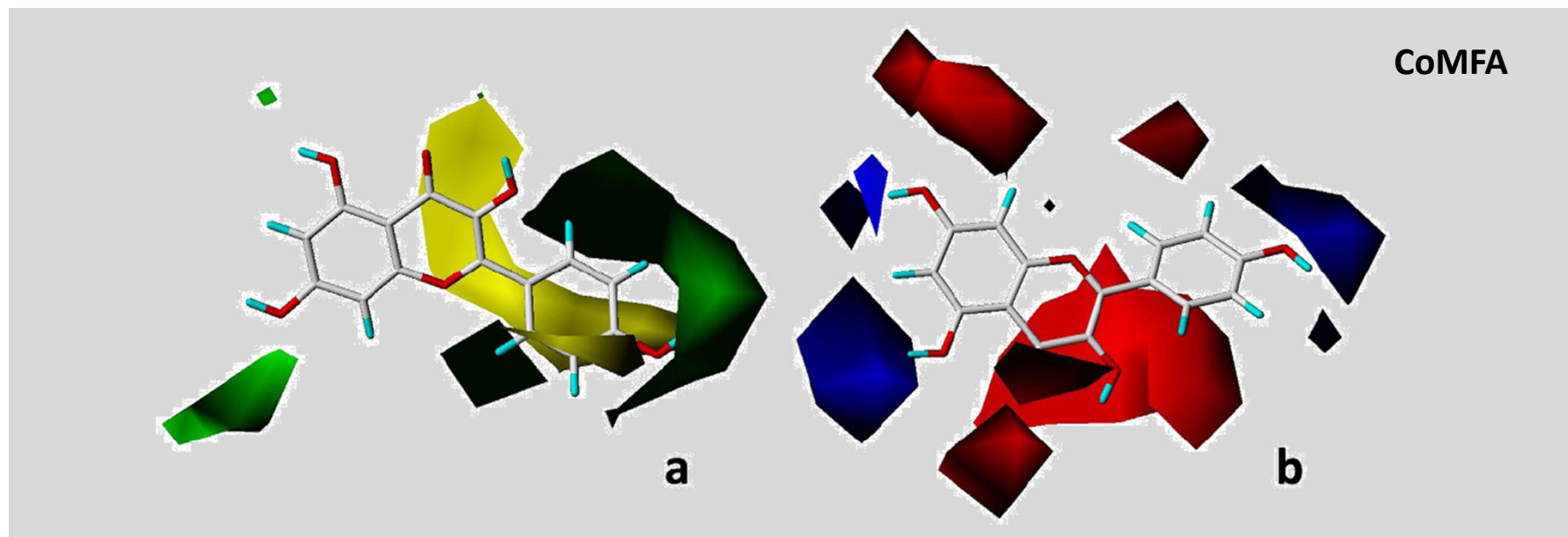
DISEÑO RACIONAL DE FÁRMACOS

Enfoques computacionales

Pasos principales del método CoMFA



Enfoques computacionales



- (a) Campo estérico. Los contornos verdes indican las regiones donde el volumen (o masa) es favorable, y los contornos amarillos señalan las áreas donde el volumen es desfavorable.
- (b) Campo electrostático. La región azul se refiere al área donde un grupo electropositivo es favorable, mientras que la región roja representa el área donde un grupo electronegativo resulta favorable.

Enfoques computacionales

Primeros 6G

CoMFA (Comparative Molecular Field Analysis)

Ventajas:

- Integra información tridimensional en los modelos QSAR.
- Permite visualizar regiones del espacio molecular críticas para la actividad.
- Guía de manera directa el diseño de análogos más potentes.

Limitaciones:

- Sensibilidad a parámetros.
- Dependencia del alineamiento: si las moléculas no están bien superpuestas, los resultados carecen de sentido.
- Si no se sabe la conformación de unión (activa), se trabaja con hipótesis.
- Considera solo campos estéricos y electrostáticos (otros efectos como hidrofobicidad o solvatación se tratan en extensiones como CoMSIA).

Enfoques computacionales

Prácticamente todos los enfoques

CoMSIA (Comparative Molecular Similarity Indices Analysis)

Igual que CoMFA, sondea el espacio alrededor de las moléculas con un átomo sonda sobre una malla 3D (*atom probing*).

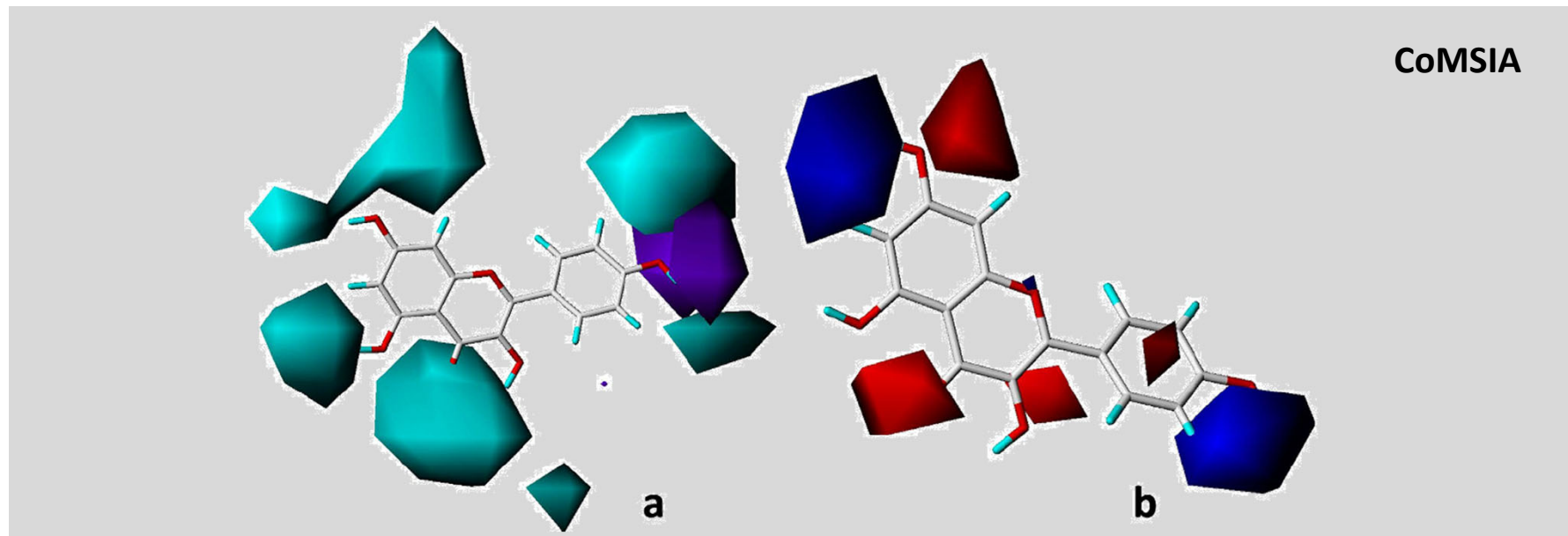
Usa una función de potencial distinta, lo que permite calcular campos adicionales: además de estérico y electrostático, incluye el campo hidrofóbico y, en implementaciones comunes, se amplía con descriptores relacionados con el entorno de *H-bonding* (donadores y aceptores).

Este desarrollo surge porque los campos puramente estéricos y electrostáticos no describen por completo la interacción fármaco-receptor; por eso se propusieron formas alternativas/modificadas como CoMSIA.

¿Cuándo preferir CoMSIA?

Cuando la hidrofobicidad local es clave en el reconocimiento/afinidad, o cuando CoMFA no captura bien tendencias relacionadas con entornos apolares (por ejemplo, bolsillos lipofílicos).

Enfoques computacionales



- a) Mapa de contornos de donadores de enlace de hidrógeno. Cian indica las regiones donde un grupo donador de enlace de H es favorable. Púrpura, donde un grupo aceptor de enlace de H es favorable.
- b) Mapa de contornos del campo electrostático. Azul corresponde al área donde un grupo electropositivo es favorable. Rojo representa el área donde un grupo electronegativo es favorable.

Enfoques computacionales

P rgharv gh#v p lwxg 6G

Fortalezas de CoMSIA

- Captura efectos hidrofóbicos además de los estéricos y electrostáticos, aportando una visión más rica de la complementariedad ligando-receptor.
- Mantiene la interpretabilidad mediante mapas de contorno 3D, útiles para sugerir sustituciones específicas.

Limitaciones y buenas prácticas

- Dependencia del alineamiento: igual que CoMFA, asumir que todos los ligandos se unen con orientación similar puede ser arriesgado y el alineamiento correcto es difícil, sobre todo con moléculas flexibles.
Recomendación: usar información estructural del complejo cuando exista, o reglas de alineamiento basadas en farmacóforos (*scaffold*).
- Calidad y diversidad de la serie: incluir suficientes compuestos con rango amplio de actividad y dividir apropiadamente en entrenamiento/validación.

Enfoques computacionales

Prgharv gh#p lwxg 6G

Topomer CoMFA

En el contexto del diseño de fármacos, un topómero es un descriptor molecular que representa la forma tridimensional de un fragmento de una molécula.

La idea central es que una molécula puede dividirse en fragmentos en ciertos enlaces (generalmente enlaces sencillos acíclicos), y cada fragmento se convierte en un “topómero”, es decir, una unidad estructural que captura la geometría y propiedades estéricas/electrostáticas de esa parte de la molécula

En aplicaciones como Topomer CoMFA, las moléculas de una serie se fragmentan en topómeros, se generan modelos 3D de esos fragmentos y se calculan campos estéricos y electrostáticos para cada conjunto. Luego, esos topómeros se comparan entre sí por superposición de los puntos de fragmentación, lo que permite analizar similitudes farmacofóricas y predecir la actividad biológica. Este enfoque ofrece ventajas frente a CoMFA tradicional, ya que automatiza y simplifica la preparación de datos, acelera el modelado y facilita la búsqueda en bibliotecas virtuales de fragmentos para identificar sustituyentes con mayor potencia

Enfoques computacionales

Principios de Topomer CoMFA

Origen y motivación: El CoMFA tradicional depende de una superposición manual o guiada de moléculas lo que puede provocar que distintos investigadores obtengan resultados distintos. Topomer CoMFA automatiza el alineamiento mediante fragmentación topológica de moléculas.

Principios de Topomer CoMFA

- Cada molécula se fragmenta en dos (o más) partes en un punto de unión definido (*scaffold* + sustituyentes, por ejemplo).
- A cada fragmento se le asigna un Topomer, que es una representación estandarizada de su conformación en el espacio.
- Los topómeros se alinean automáticamente de acuerdo con reglas topológicas y geométricas predefinidas, sin intervención manual.
- Una vez alineados los fragmentos, se aplican los mismos cálculos de campos moleculares que en CoMFA (estérico y electrostático en una malla 3D).

Enfoques computacionales

Prgharv gh#v# bwxg 6G

Ventajas de Topomer CoMFA

- **Automatización total del alineamiento:** elimina la arbitrariedad humana.
- **Rapidez:** se pueden generar modelos en minutos.
- **Interpretación en términos de fragmentos:** facilita el diseño de nuevas moléculas combinando fragmentos favorables.
- **Compatibilidad con librerías virtuales:** se pueden evaluar grandes catálogos de fragmentos y combinaciones sin necesidad de modelado manual.

Limitaciones

- Requiere que las moléculas se **puedan fragmentar de manera lógica y consistente**.
- Si la actividad depende de la conformación global (y no solo de fragmentos), el modelo puede perder precisión.
- No considera explícitamente interacciones del ligando completo (solo de los fragmentos alineados).

Enfoques computacionales

Prácticamente 100% de los fármacos

Algunos códigos libres:

Escritorio:

Open3DQSAR: modelado 3D-QSAR CoMFA/CoMSIA.

Open3DALIGN: alineamiento molecular (conformeros y superposición no supervisada) para preparar datasets para 3D-QSAR.

Open3DGRID: genera potenciales estéricos/electrostáticos, etc. (MIFs) y puede importar campos CoMFA/CoMSIA exportados de otros programas.

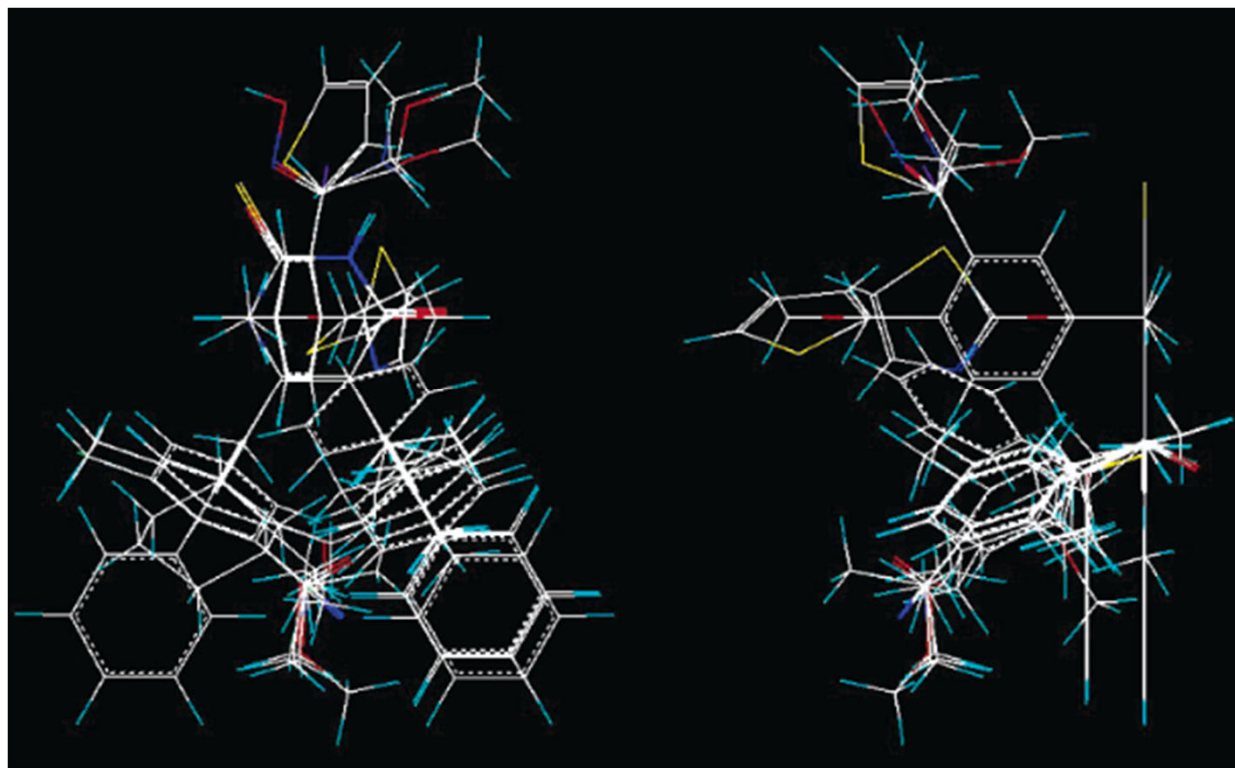
Servidores web:

Py-CoMFA (portal 3D-QSAR): implementación en Python del método CoMFA disponible vía www.3d-qsar.com

Cloud 3D-QSAR: ofrece una solución “one-stop” (generación de estructuras, alineamiento, cálculo de MIFs y modelado; incluye CoMFA).

Enfoques computacionales

Prgharv gh#v#p lwxg 6G



No hay un software
Topomer CoMFA
“puro” de código
abierto

J. Med. Chem. 2003, 46, 3, 374

Enfoques computacionales

Próximo a la 6G

Ventajas y límites (en la práctica)

Ventajas

- Dan señales espaciales accionables (mapas) para optimización de análogos.
- Capturan efectos estéricos/electrostáticos que no se ven en 2D.
- Recomendables cuando hay serie congénere con datos comparables.

Limitaciones

- Dependencia del alineamiento y de la conformación seleccionada.
- Pueden sobreajustarse si no se valida bien.
- Requieren calidad de datos y rango de actividad suficiente.

Enfoques computacionales

Un **modelo farmacofórico** representa el conjunto tridimensional de características estéricas y electrónicas necesarias para asegurar la interacción óptima entre un ligando (fármaco o candidato) y su diana biológica (enzima, receptor, canal iónico, etc.).

Estas características incluyen:

- **Donadores y aceptores de puentes de hidrógeno.**
- **Centros catiónicos o aniónicos.**
- **Regiones hidrofóbicas.**
- **Centros aromáticos o planos de interacción π - π .**

Permiten deducir las características espaciales mínimas que confieren actividad biológica a una familia de compuestos, aun cuando la estructura del receptor no se conozca.

- **Ligand-based pharmacophore:** se deriva de varios ligandos conocidos y se deduce qué características comparten.
- **Structure-based pharmacophore:** se construye usando directamente la estructura del blanco (ej. cristalografía de rayos X).

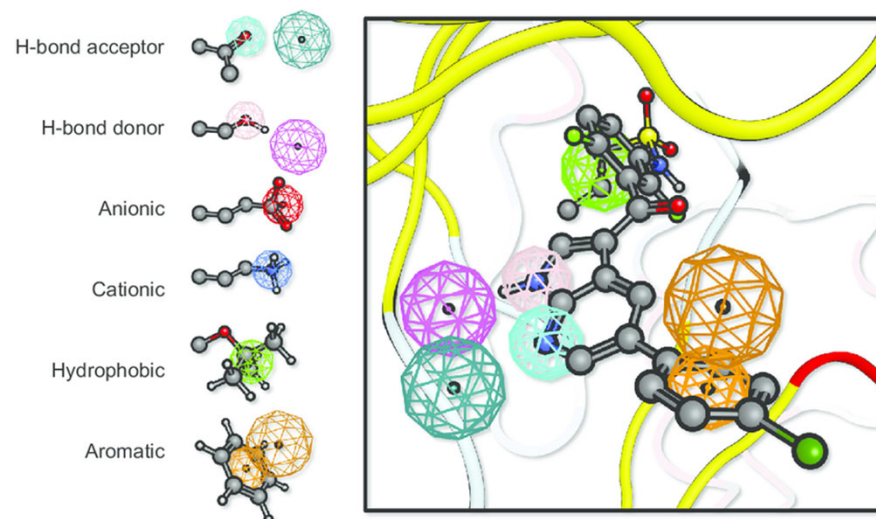
Enfoques computacionales

Principios de diseño racional

Los **modelos farmacofóricos** se generan comparando una serie de ligandos activos (por ejemplo, agonistas de un receptor) y superponiendo sus grupos funcionales críticos.

Este enfoque permite predecir qué modificaciones estructurales mantendrán o aumentarán la afinidad y selectividad, guiando la optimización del compuesto líder.

Cuando la estructura de la proteína receptora no está disponible, los farmacóforos constituyen el núcleo del cribado virtual (*virtual screening*). El modelo se usa como plantilla para explorar bases de datos moleculares y seleccionar compuestos que contengan las mismas características espaciales.



Enfoques computacionales

P rgharv idup dfr ¼ulfrv

D o j x q r v # ¼ g l j r v # ¼ e u h v =

G u x j R q = \$ d t x h w # K q l { # x h # q w j u d # p r g h o d g r # i d u p d f r ¼ u l f r # / j h q h u d f ¼ q # g h #
k l s ¼ w h v l # # k h u d p h q w d v # g h # h v w x f w u d o j d q g r l

S k d u p P d s s h u = # h u y l f r # h q # 6 q h d # # h u y l g r u # j u d x l r # \$ o l d i r u p d # g h #
· p d w k l b j i d u p d f r ¼ u l f r # # q w j u d g d # s d u d # g h q w i l f d f ¼ q # g h # g b q d v #
s r w h q f l d h v # d # s d u w u g h # x q # p r g h a # i d u p d f r ¼ u l f r #

S p d s s h u = # j h q h u d # p r g h a r v # i d u p d f r ¼ u l f r v 6 G # e d v d g r v # h q # f r q m x q w r v # g h #
f r p s x h w r v # d f w y r v 2 b d f w y r v # b q h f h v l g d g # g h # d q h d p h q w # n { s o f l w #

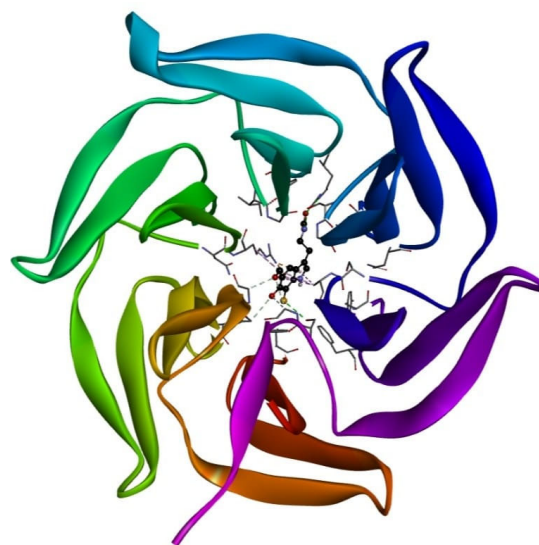
DISEÑO RACIONAL DE FÁRMACOS

Enfoques computacionales

Dfrsøp hqr p rñfxødu#grfnbj,

El **acoplamiento molecular** pertenece al diseño basado en estructura (*structure-based design*). Es una metodología computacional que busca predecir la orientación y conformación más probable (pose) de un ligando dentro del sitio activo de una diana molecular conocida.

Permite predecir el modo de unión y la energía relativa de interacción, lo que orienta la selección de los compuestos más prometedores para síntesis o ensayo experimental.



NHDS4#
+Surwhóq#d#Dvrfldgd#D#IFK#Wsr#NhfK,1
Uhjxøgru#gh#Q#u5/#kq#dfwru#gh#
wdqvfufsf#q#dvrfldgr#d#h#wv#r#b#dqwh#
+dfwyd#h#q#p#dv#surwhfwrudv#Erp#r#d#VRG/#
fdwdøvd/#j#xwdw#q#h#gx#fwdvd/#h#qwh#r#wudv,
Iqwhudff#q#Erq#kq#ghu#y#dgr#gh#p#høw#r#q#qd

Enfoques computacionales

Desarrollar un fármaco racionalmente, desde el inicio hasta el final, implica el uso de enfoques computacionales.

El proceso de docking implica dos etapas principales:

Búsqueda conformacional (*sampling*)

El software explora múltiples orientaciones y conformaciones del ligando dentro del sitio activo de la proteína, considerando grados de libertad rotacionales y torsionales.

Se evalúan millones de configuraciones posibles mediante algoritmos basados en mecánica molecular (campos de fuerza).

Evaluación energética (*scoring*)

Cada orientación se califica con una función de energía o de puntuación que estima la afinidad de unión (energía libre de interacción).

Estas funciones consideran:

- Energías de van der Waals (fuerzas estéricas).
- Interacciones electrostáticas (Coulomb).
- Puentes de hidrógeno y contribuciones hidrofóbicas.
- Penalizaciones por desolvación y entropía.

Utilidad: permite evaluar virtualmente miles de moléculas, seleccionar las más prometedoras y descartar aquellas que no encajan con el sitio activo del blanco.

Enfoques computacionales

Desarrollar programas para el diseño racional de fármacos,

Algunos códigos libres:

AutoDock Vina – estándar de facto, rápido y fácil de usar; activa comunidad y binarios recientes.

smina – “fork” de Vina con mejoras en *scoring* y minimización; muy usado para *re-scoring*.

GNINA – evolución de smina/Vina con redes neuronales (CNN) para *scoring*; soporta *covalent docking*. Ideal como segunda pasada para mejorar poses/afinidades.

RxDock (antes rDock) – motor versátil y rápido (HTVS) para proteínas y ácidos nucleicos; multiplataforma.

QuickVina 2 – variante acelerada de Vina con rendimientos de hasta ~20× en ciertos casos.

idock – inspirado en Vina, multihilo y pensado para *virtual screening* masivo.

FlexAID – docking con flexibilidad de cadenas laterales del receptor y *soft scoring*.

Vina-GPU – implementación acelerada en GPU de Vina para cribados grandes.

Enfoques computacionales

Situación	Método más útil	Objetivo
No se conoce la estructura 3D del blanco	Modelos farmacofóricos (<i>ligand-based</i>)	Identificar las características comunes de los ligandos activos.
Se conoce la estructura cristalina o modelo del blanco	Docking (<i>structure-based</i>)	Evaluar la interacción directa ligando–receptor y optimizar afinidad y selectividad.

El uso integrado de ambos permite:

- Comprender la **base estructural de la actividad biológica**.
- Predecir y optimizar **interacciones no covalentes** (electrostáticas, hidrofóbicas, puentes de H, etc.).

Reducir costos y tiempo en el proceso de descubrimiento de fármacos al reemplazar parcialmente la experimentación *in vitro* inicial.

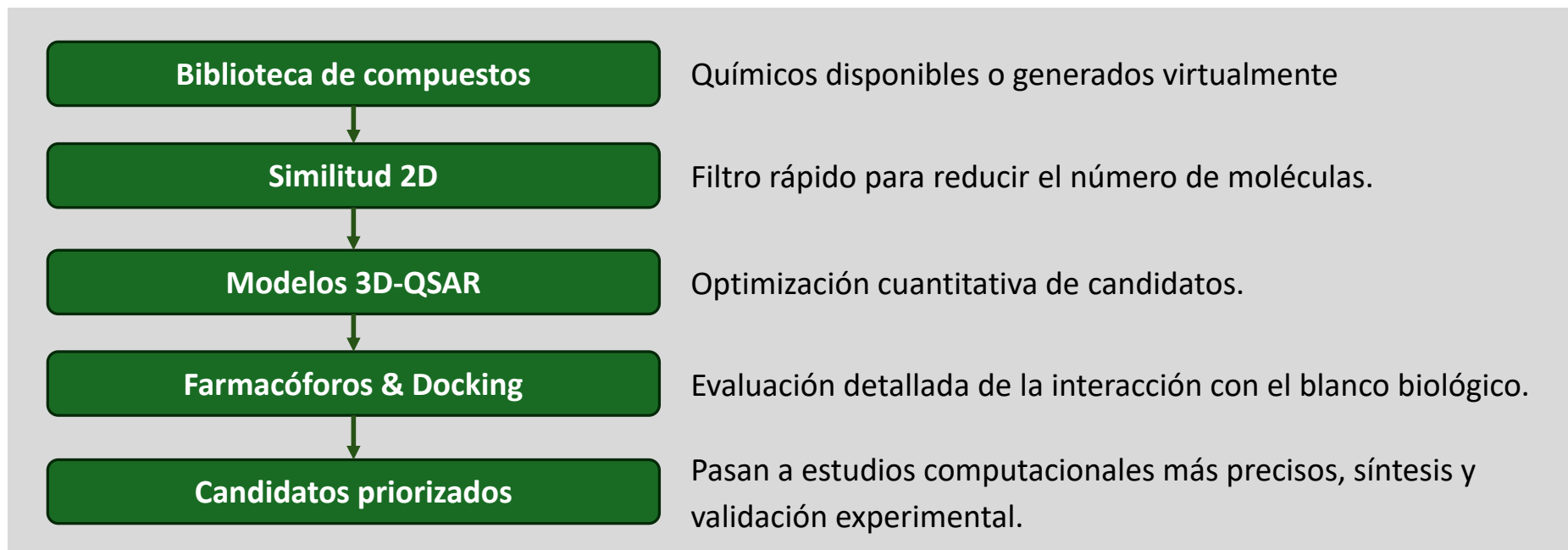
DISEÑO RACIONAL DE FÁRMACOS

Enfoques computacionales

Método	Principio	Ventajas	Limitaciones	Ejemplos de uso
Similitud 2D	Usa descriptores moleculares planos (huellas digitales binarias) y coeficientes de similitud (ej. Tanimoto) para comparar moléculas.	Muy rápido y computacionalmente barato. Útil con bibliotecas muy grandes. Fácil de implementar.	No captura la conformación real 3D. Pequeñas modificaciones estructurales pueden cambiar drásticamente la actividad. Puede dar falsos positivos o negativos.	Selección inicial de candidatos similares a un ligando conocido (ej. derivados de neurotransmisores o fármacos ya aprobados).
3D-QSAR	Relaciona parámetros tridimensionales (electrostáticos, estéricos, hidrofóbicos) con la actividad biológica de una serie de compuestos alineados.	Permite predecir regiones clave para mejorar potencia y selectividad. Aporta información cuantitativa para optimización.	Requiere un conjunto de compuestos activos como punto de partida. Difícil de alinear moléculas muy flexibles. Mayor coste computacional.	Diseño de análogos más potentes de inhibidores de enzimas o receptores, p. ej. inhibidores de quinasa (CoMFA, CoMSIA, Topomer CoMFA).
Farmacóforos y Docking	Representa características mínimas para interacción (farmacóforo) o coloca directamente el ligando en el sitio activo del blanco (docking).	- Puede usarse incluso sin ligandos conocidos (si se tiene estructura del blanco).- Da información espacial detallada del sitio activo.- Identifica nuevas andamios (scaffolds).	Requiere datos estructurales confiables del blanco (cristalografía o modelado). Predicciones pueden ser sensibles al algoritmo de <i>scoring</i> . Computacionalmente más demandante.	Identificación de nuevos inhibidores de proteasas, GPCRs o quinasas usando AutoDock, Glide, GOLD, etc.

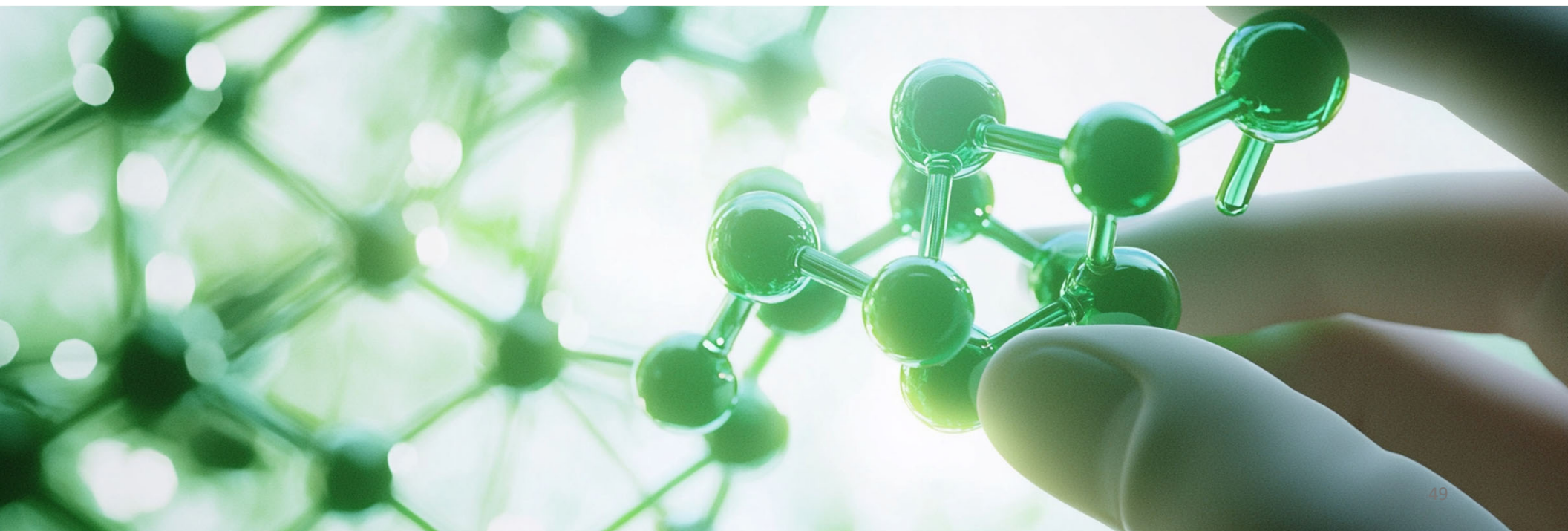
Enfoques computacionales

Flujo típico para cribado virtual en el descubrimiento de fármacos:



INTRODUCCIÓN

Modificación y optimización del compuesto líder



Modificación del compuesto líder

**Una vez que se han identificado uno o más compuestos líderes,
¿qué más debe hacerse antes de tener un candidato a fármaco viable?**

Por lo general, es necesario, o ventajoso, optimizar al menos uno, pero a menudo varios, usando una serie de parámetros clave para tener la mayor probabilidad de identificar un fármaco exitoso.

Los parámetros más importantes que pueden requerir optimización incluyen: potencia; **selectividad**; absorción, distribución, metabolismo y excreción (**ADME**), **toxicidad** y **accesibilidad sintética**.

Este proceso normalmente implica el estudio de versiones modificadas (análogos) del compuesto líder y la evaluación de las nuevas sustancias en una serie de pruebas relevantes. Aunque no es raro sintetizar y evaluar cientos de análogos en el proceso de optimización de líderes antes de identificar un candidato a fármaco (un compuesto digno de pruebas extensas en animales), actualmente pueden utilizarse métodos computacionales para una evaluación preliminar y así reducir el número de compuestos a sintetizar (costos, trabajo humano, pruebas en animales).

Modificación del compuesto líder

Potencia: intensidad del efecto biológico o, dicho de otro modo, a cuánto (qué concentración) del compuesto se requiere para alcanzar un nivel definido de efectividad.

Si todo lo demás es igual, cuanto más potente sea un fármaco, menos cantidad será necesario administrar para lograr el efecto deseado.

Administrar menos fármaco es deseable porque minimiza el costo por dosis del medicamento y maximiza la comodidad de administración (evita píldoras excesivamente grandes, la necesidad de tomar un gran número de píldoras al mismo tiempo o la necesidad de tomar el medicamento varias veces al día).

Si se pueden administrar dosis más bajas del medicamento para lograr el efecto deseado, entonces debería ser menor la probabilidad de que se vean afectados sitios de acción no intencionados (objetivos secundarios, no relacionados con el objetivo de interés). Por lo que también disminuye la probabilidad de provocar efectos secundarios adversos.

Modificación del compuesto líder

Selectividad: interacción específica con el objetivo de interés.

Los sitios de acción no intencionados se refieren a interacciones con objetivos no identificados o inesperados (objetivos secundarios, *off-targets*) .

Puede haber objetivos secundarios que estén relacionados con el objetivo previsto y con los cuales sería desventajoso que el fármaco interactuara. Por ejemplo, el receptor de dopamina D3 interactúa con miembros de la misma familia que los receptores de dopamina D1, D2, D4 y D5. Todos utilizan dopamina como ligando endógeno, pero pueden mediar respuestas diferentes.

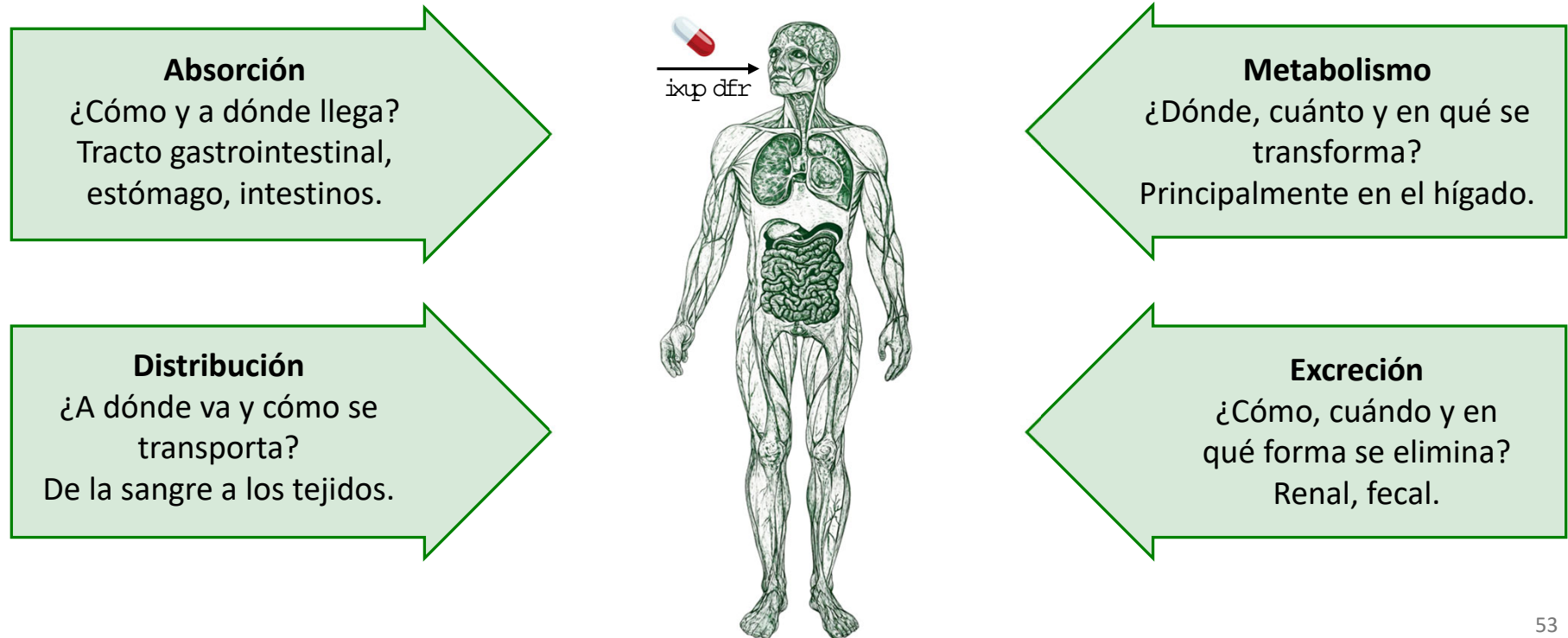
Existen otros objetivos secundarios conocidos que se deben evitar. Por ejemplo, la familia de enzimas citocromo P450 (CYP), responsables del metabolismo de muchos fármacos. Inhibir una enzima CYP puede inhibir el metabolismo de otros medicamentos que una persona esté tomando al mismo tiempo, lo que provoca cambios drásticos en los niveles de esos otros fármacos.

El resultado, conocido como interacciones fármaco–fármaco, puede limitar gravemente los medicamentos que se pueden tomar al mismo tiempo o, en ocasiones, causar una acumulación fatal de otros fármacos.

Modificación del compuesto líder

Absorción, Distribución, Metabolismo y Excreción (ADME)

En farmacocinética, describen el recorrido de un xenobiótico (sustancia exógena, p. ej., un fármaco) desde que entra al organismo hasta que se elimina.



Modificación del compuesto líder

Toxicidad

La toxicidad es el *riesgo* de un compuesto de producir daño biológico. El riesgo depende del peligro intrínseco y de la exposición (magnitud, duración, distribución tisular y fracción libre). El objetivo de diseño de fármacos es minimizar el riesgo a dosis terapéuticas manteniendo la eficacia.

Algunos tipos de toxicidad:

- **On-target:** efectos adversos por sobreactivación/inhibición del *mismo* blanco terapéutico fuera del rango deseado.
- **Off-target:** interacción con blancos no deseados (receptores, canales iónicos, enzimas).
- **Dependiente de metabolismo/reactividad:** formación de metabolitos reactivos (electrófilos) que se unen de forma covalente a macromoléculas; surgen con “*toxicóforos*” clásicos (nitroaromáticos, anilinas, quinonas, furano/tiofeno, etc.).
- **Mitocondrial:** fosforilación oxidativa (puede causar estrés oxidativo, apoptosis o disfunción mitocondrial).
- **Cardíaca:** alteración de los canales de potasio y frecuencia cardíaca.



Modificación del compuesto líder

Accesibilidad sintética

La **accesibilidad sintética** es una medida (cualitativa o cuantitativa) de lo difícil que sería preparar una molécula dada por síntesis química a partir de materiales comerciales razonables, usando transformaciones plausibles y en un número de pasos aceptable.

En el diseño de fármacos se usa como una restricción (*hard/soft*) para priorizar compuestos que no solo son potentes y seguros, sino fabricables dentro de costes y tiempos realistas.

Algunos aspectos a considerar:

- **Complejidad estructural:** tamaño del anillo/puentes, policiclicidad, espiras (spiro), número de centros quirales, tetrasustitución en alquenos, etc.
- **Funcionalidad:** tipos de grupos funcionales (reactividad controlable vs. lábiles), compatibilidad (necesidad de protección/desprotección), densidad de heteroátomos.
- **Disponibilidad de “building blocks”:** similitud con fragmentos catalogados (comprables), distancia sintética a catálogos reales.
- **Ruta de síntesis:** número de pasos, probabilidad de cada transformación, convergencia, rendimiento esperado y dificultad operativa.



INTRODUCCIÓN

Desarrollo del fármaco

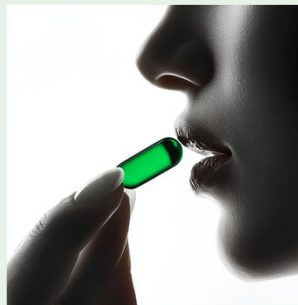


DISEÑO RACIONAL DE FÁRMACOS

El desarrollo de fármacos normalmente se refiere a llevar un compuesto, identificado a partir del proceso de descubrimiento ya descrito, a los pasos posteriores necesarios hasta su comercialización.

Típicamente, estos pasos adicionales incluyen:

- el desarrollo preclínico,
- el desarrollo clínico
- y la aprobación regulatoria.



Desarrollo preclínico

- Desarrollo de procesos sintéticos que permitan fabricar el compuesto con una pureza reproducible a gran escala (multi-kilogramos).
- Desarrollo de una formulación (en la mayoría de los casos una solución o suspensión del fármaco) que pueda administrarse a animales en pruebas de toxicidad y una solución, suspensión o pastilla que pueda administrarse a humanos en ensayos clínicos.
- Pruebas de toxicidad en animales bajo las condiciones prescritas por las autoridades regulatorias en la región donde se llevarán a cabo los ensayos clínicos.



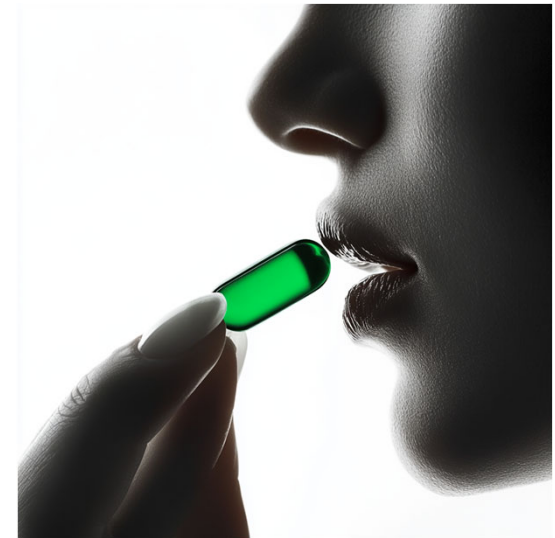
Obtener permiso de las autoridades regulatorias para administrar el fármaco a humanos.

Desarrollo clínico (ensayos clínicos en humanos)

El desarrollo clínico normalmente se lleva a cabo en tres fases (Fases I–III) antes de solicitar la aprobación regulatoria para comercializar el medicamento:

Ensayos de Fase 0, también conocidos como estudios de microdosificación en humanos.

Están diseñados para acelerar el desarrollo de medicamentos prometedores o agentes de imagen a partir de estudios preclínicos (en animales). Se administra una sola dosis subterapéutica del fármaco a unas 10–15 personas sanas para recopilar datos preliminares de ADME en humanos y establecer un orden de prioridad entre candidatos a fármaco que tengan un potencial similar en estudios preclínicos, con casi ningún riesgo de efectos secundarios para los sujetos.



Desarrollo clínico (ensayos clínicos en humanos)

Fase I evalúa la seguridad, la tolerabilidad (niveles de dosificación y efectos secundarios), las propiedades farmacocinéticas y los efectos farmacológicos del fármaco en aproximadamente 20–100 personas.

Estos individuos suelen ser voluntarios sanos, aunque en algunos casos se pueden utilizar pacientes reales cuando la enfermedad es potencialmente mortal. Un objetivo clave de estos estudios es intentar correlacionar los resultados de los estudios de toxicidad en animales (incluyendo los niveles del fármaco en sangre y diversos tejidos) con los hallazgos en humanos para ayudar a establecer la relevancia de los estudios en animales. La Fase I generalmente dura desde unos pocos meses hasta aproximadamente un año y medio.

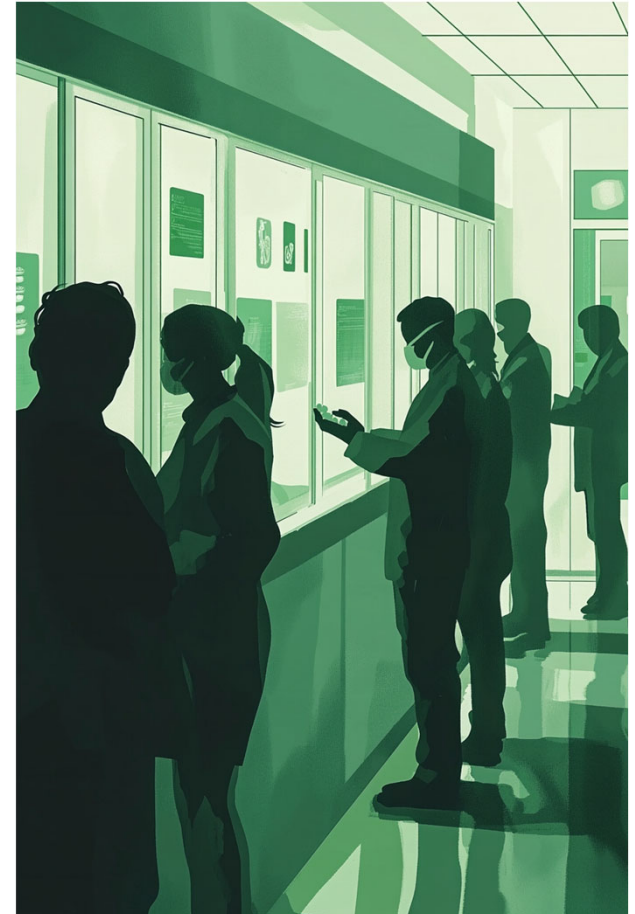


Desarrollo clínico (ensayos clínicos en humanos)

La **Fase II** evalúa la eficacia del fármaco, determina los efectos secundarios y otros aspectos de seguridad, y aclara el régimen de dosificación en unos pocos cientos de pacientes con la enfermedad.

Estos estudios normalmente ofrecen una primera idea de la efectividad del fármaco contra la enfermedad, pero debido al tamaño limitado de la muestra y otros factores, generalmente no se consideran concluyentes para establecer la eficacia del medicamento.

La Fase II suele durar de 1 a 3 años.



Desarrollo clínico (ensayos clínicos en humanos)

La **Fase III** es un ensayo más amplio, generalmente con varios miles de pacientes, que establece la eficacia del fármaco, supervisa las reacciones adversas derivadas de su uso prolongado y puede comparar el medicamento con otros similares que ya estén en el mercado.

Se incluyen controles científicos apropiados para permitir sacar conclusiones estadísticamente significativas sobre la efectividad del fármaco.

La Fase III suele requerir entre 2 y 6 años para completarse.



Aprobación regulatoria para comercializar el medicamento

En Estados Unidos, la aprobación regulatoria requiere la presentación a la FDA de una Solicitud de Nuevo Fármaco (*New Drug Application*, NDA), que resume los resultados de los ensayos clínicos. Actualmente, esto puede hacerse de forma electrónica; antes requería, literalmente, un camión cargado de papeles que describían todos los estudios preclínicos y clínicos.

Con base en estos datos, la FDA decide si concede la aprobación para que el medicamento pueda ser recetado por médicos y vendido a pacientes. Una vez que el medicamento está en el mercado, es posible evaluar su seguridad y tolerabilidad reales, ya que es administrado a cientos de miles, si no millones, de personas.

Estas actividades de vigilancia posterior a la comercialización se conocen a menudo como estudios de **Fase IV**, ya que es en esta etapa cuando efectos que no fueron estadísticamente significativos en los ensayos clínicos pueden volverse significativos con una población de pacientes amplia y diversa, lo que puede llevar a la aparición de efectos secundarios no observados en el número relativamente pequeño de pacientes de los ensayos de Fase III.

Los estudios de Fase IV pueden revelar nuevas indicaciones para un medicamento en pacientes que presentan síntomas de otras enfermedades.

Diseño de fármacos moderno

El proceso de descubrimiento y desarrollo de fármacos es largo y arduo, con una duración promedio de entre 12 y 15 años, un tiempo que ha permanecido constante por más de 30 años.

Aproximadamente, **por cada 20,000 compuestos que se evalúan *in vitro*, 250 se evaluarán en animales, 10 llegarán a los ensayos clínicos en humanos y solo uno llegará al mercado**, con un costo estimado de entre 1.2 y 1.8 mil millones de dólares (¡en 1962 era de solo 4 millones!).

Los candidatos a fármaco (o nuevas entidades químicas o nuevas entidades moleculares, como a menudo se les llama) que fracasan en etapas avanzadas de este proceso generan enormes pérdidas financieras no recuperadas para la empresa.

Además, lograr que un medicamento llegue al mercado puede no ser tan gratificante; se ha estimado que solo el 30 % de los medicamentos en el mercado generan realmente beneficios.



EJERCICIO 3



- Busque información sobre los requisitos para la Aprobación regulatoria en México.
- Busque información sobre los requerimientos para patentar un medicamento en México.

Discuta la información obtenida con sus compañeros en la siguiente clase.