

Química computacional en diseño de fármacos

Prácticamente la totalidad de los procesos biológicos surgen en último término como resultado de la interacción entre biomoléculas. Probablemente cabe atribuir esta afirmación a Emil Fischer, quien hace más de 100 años describió el reconocimiento molecular como un evento similar al encaje entre una llave y su correspondiente cerradura¹.

R. Pouplana, X. Barril^(a) y F. J. Luque

Departamento de Físicoquímica e Instituto de Biomedicina, Facultad de Farmacia, Universidad de Barcelona y Red de Referencia en Química Teórica y Computacional^(a) ICREA

ESTA IDEA CONTIENE EN esencia la base molecular de la acción de un fármaco. Comprender los determinantes moleculares que modulan el reconocimiento entre un pequeño compuesto (ligando) y su diana biológica macromolecular (receptor), generalmente proteica, es absolutamente necesario de cara a determinar las características geométricas y de reactividad química que modulan no sólo la afinidad entre ligando y receptor, sino también la selectividad y especificidad de dicha interacción. A su vez, ello es fundamental de cara a poder establecer una relación entre la estructura molecular del ligando y su efecto biológico.

Durante mucho tiempo el descubrimiento de fármacos ha sido un ejercicio de “ensayo y error” basado en el screening de compuestos en ensayos biológicos. Ello necesariamente

imponía una seria limitación en la diversidad química que podía ser explorada dentro del universo químico. Por ello, el resultado final dependía enormemente de la elección de los compuestos ensayados. Estas limitaciones han sido mitigadas gracias al desarrollo de la química combinatoria, así como a sistemas robotizados capaces de efectuar un ensayo biológico a escala masiva. En los últimos años, el diseño de fármacos se ha beneficiado dramáticamente del desarrollo de la química computacional. A partir de un modelo hipotético acerca del mecanismo de acción frente a una diana determinada (Figura 1), la química computacional permite identificar y optimizar compuestos de elevada afinidad como potenciales candidatos a fármacos frente a dicha diana.

Más recientemente, la química computacional se ha extendido al diseño de compuestos que presenten no sólo una elevada afinidad por su receptor, sino también una optimización de sus propiedades farmacocinéticas (ADMET), que aseguran un balance en la absorción, distribución y metabolismo del fármaco, junto a su excreción y toxicidad. Aunque las herramientas de la química computacional están hoy día sujetas a una constante revisión, beneficiándose además de los avances en la potencia de cálculo, existe un notable número de casos que ilustran claramente su impacto en el desarrollo de nuevos fármacos².

Reconocimiento entre ligando y receptor

La afinidad entre ligando y receptor refleja el balance existente entre básicamente cuatro factores. En primer lugar, la afinidad depende del conjunto de interacciones establecidas entre los grupos químicos presentes en el ligando con los residuos del receptor. Dichas interacciones comprenden una gama de contribuciones

diversa tanto en su contribución energética como en su direccionalidad, incluyendo entre otras puentes salinos, puentes de hidrógeno, interacciones dipolo-dipolo o de van der Waals. En segundo lugar, la afinidad está afectada por la desolvatación de ligando y receptor en el proceso de formación del complejo. En tercer lugar, la interacción puede conllevar cambios estructurales tanto en el ligando como en el receptor. Finalmente, otro factor a considerar es el cambio entrópico traslacional y rotacional asociado a la formación del complejo, así como a la pérdida de flexibilidad conformacional intramolecular. Estos últimos tres factores tienen un impacto negativo sobre la afinidad, que debe ser compensado con la contribución positiva debida a la energía de interacción entre ligando y receptor.

El éxito del diseño de fármacos reside en la optimización del balance entre dichos factores. Ello conlleva la concepción de una estructura química con una distribución espacial de grupos funcionales que maximice la complementariedad entre ligando y receptor. Así, pues, cabe establecer una relación subyacente entre la actividad biológica de un compuesto dado con el grado de complementariedad existente entre su estructura química y el receptor. De esta forma, se utiliza el concepto de farmacóforo para designar el conjunto de requisitos geométricos y químicos esenciales que debe presentar un compuesto para poder interaccionar de forma efectiva con su diana macromolecular.

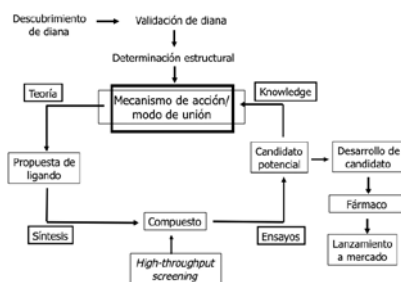


Figura 1. Representación esquemática de las etapas involucradas en el descubrimiento y desarrollo de fármacos

Diseño basado en ligando

El escenario de la química computacional en diseño de fármacos está determinado principalmente por la disponibilidad de información acerca de la estructura tridimensional del receptor. En ausencia de ésta, la aproximación racional al diseño de fármacos debe llevarse a cabo mediante técnicas basadas en ligando. La premisa fundamental de estos métodos es que una propiedad macroscópica como la afinidad entre ligando y receptor está asociada en último término a la naturaleza, distribución espacial y características químicas presentes en la estructura molecular del ligando, que deben maximizar la complementariedad con los residuos que definen el centro de unión del receptor. Por ello, el objetivo principal consiste en establecer una hipótesis de farmacóforo en base a la comparación entre las diferencias de actividad biológica para una serie de compuestos que actúan sobre la misma diana y las diferencias estructurales entre dichos ligandos.

En este contexto, la relación estructura-actividad cuantitativas (QSAR), establecidas de forma sistemática en la década de los 60, persiguen identificar la relación existente entre la actividad biológica y las características químicas específicas presentes en la estructura de ligandos que interaccionan en el mismo centro de unión del receptor. Tradicionalmente, los métodos QSAR utilizan una combinación de descriptores que reflejan las propiedades electrostáticas, estéricas e hidrofóbicas de los grupos químicos presentes en el ligando. De esta forma, dos compuestos cuya estructura química sea altamente similar, y por tanto su forma y volumen, así como su polaridad y lipofilia, sean similares, deben dar lugar a respuestas biológicas parecidas.

La versión actual de dicha metodología se conoce como

técnicas 3D-QSAR, que utilizan como propiedades las medidas directas de campos moleculares en regiones concretas del espacio tridimensional que rodea al ligando con objeto de explicar la actividad biológica. Sin duda alguna, la metodología 3D-QSAR más extendida es COMFA/COMSIA^{3,4}, que puede considerarse como una de las piedras angulares del diseño de fármacos basado en ligando. Al igual que los métodos QSAR tradicionales, las técnicas 3D-QSAR permiten expresar dicha relación mediante una ecuación matemática. No obstante, la principal ventaja consiste en la posibilidad de poder visualizar gráficamente aquellas regiones del espacio donde las características electrostáticas, estéricas e hidrofóbicas tienen una particular relevancia en la modulación de la actividad biológica (Figura 2).

Por otra parte, mientras que las técnicas QSAR están limitadas a series estructuralmente similares de ligandos, las técnicas 3D-QSAR permiten la comparación de compuestos con estructuras químicas diversas.

Docking y screening virtual

Cuando la estructura de la diana es conocida, usualmente a partir de estudios de cristalografía de rayos X, por resonancia magnética nuclear (RMN) o bien por técnicas bioinformáticas como predicción de estructura basada en homología de secuencia, la información acerca de la estructura atómica del centro de unión permite plantear nuevas aproximaciones al diseño de fármacos. Así, en primer lugar cabe plantearse la posibilidad de identificar compuestos (hits) que, aún teniendo una actividad moderada (por ejemplo, una concentración para inhibición del 50% del orden $\sim 10 \mu\text{M}$), aporten una estructura química novedosa no explorada. Por otra parte, el conocimiento estructural del

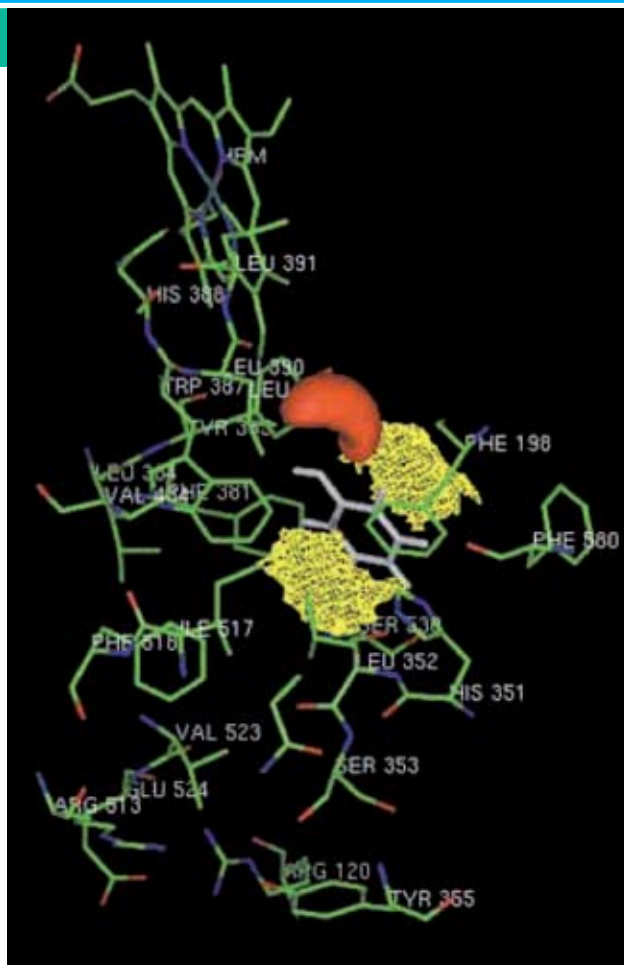


Figura 2. Representación farmacofórica en ciclooxigenasa 2 humana ilustrada mediante la interacción con 2,4,6-trimetilfenol. (los contornos en amarillo y rojo corresponden a campos hidrofóbico y electrostático⁵).

receptor abre la posibilidad de examinar la introducción de cambios estructurales en el ligando con objeto de optimizar su afinidad, hasta alcanzar valores en el rango nM.

La posibilidad de identificar hits está íntimamente asociada al desarrollo de técnicas de docking, que permiten llevar a cabo el filtrado (screening) virtual de librerías de compuestos con la finalidad de seleccionar aquellos ligandos capaces de posicionarse de forma óptima en el centro de unión, así como de poder establecer una puntuación para su potencial afinidad (Figura 3).

En la práctica, el docking de ligandos presenta unos retos importantes para la química computacional, pues obliga a realizar una exploración exhaustiva del espacio conformacional de ligando, así como discriminar entre los diferentes modos de unión que pueda

adoptar el ligando, y finalmente estimar la afinidad de unión con el receptor.

La bondad de los resultados de docking es actualmente limitada y ello cabe atribuirlo a diversos factores. Sin duda, uno de los aspectos más críticos es la dificultad de explorar de forma completa los cambios conformacionales que puedan ocurrir no sólo en el ligando, sino también en el receptor, tanto en las cadenas laterales de los residuos como especialmente en cambios que afecten a la disposición del esqueleto peptídico. Por otra parte, las funciones de puntuación deben ser capaces de incluir todos los factores que modulan la interacción entre ligando y receptor, aunque manteniendo una expresión computacional que permita la exploración de miles de compuestos de forma eficiente, para lo cual suelen recurrir a expresiones empí-

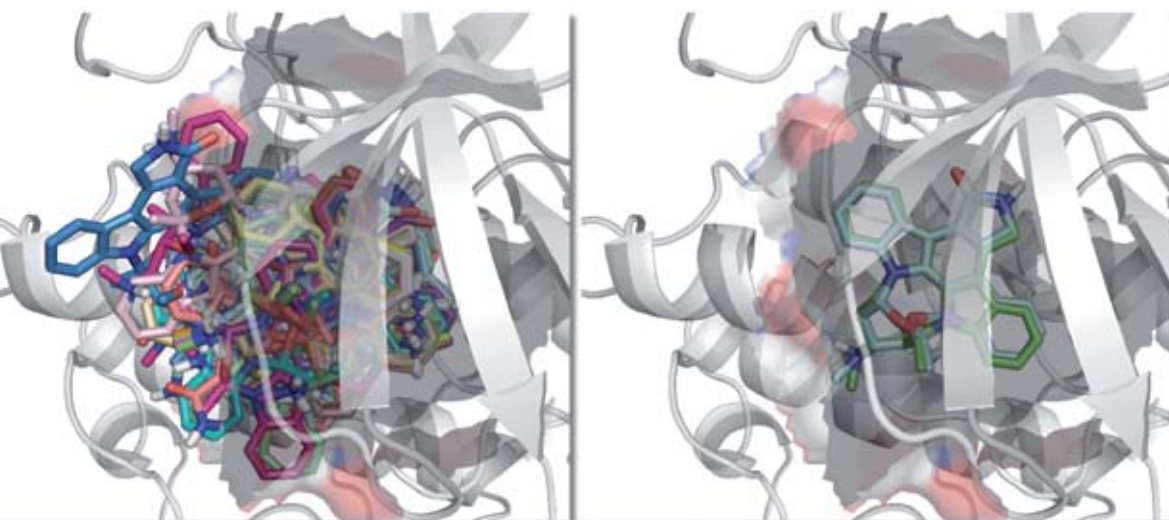


Figura 3. Representación ilustrativa de los múltiples modos de unión de un ligando a un receptor (izquierda). Cada solución obtiene una puntuación y aquella mejor valorada se propone como modo de unión real. A la derecha se compara la solución propuesta por docking (verde) con la orientación observada experimentalmente (azul).

ricas ajustadas mediante una parametrización basada en complejos ligando-receptor conocidos. Finalmente, no existe actualmente un algoritmo eficiente para determinar el papel de aguas estructurales a la hora de mediar el reconocimiento entre ligando y receptor.

Ciertamente, en los últimos años se han producido avances importantes en la resolución de dichas dificultades, como el uso de funciones de puntuación consenso, la re-evaluación a posteriori de las afinidades de ligandos mediante técnicas o la exploración conformacional mediante dinámica molecular acelerada o metadinámica⁶. A pesar de dichos avances, no existe actualmente una respuesta unívoca a la pregunta acerca del mejor programa de docking. De hecho, es conveniente y necesario dedicar cierto esfuerzo en determinar la bondad de diversos programas de docking a la diana objeto de interés, calibrando por ejemplo la capacidad de identificar el modo de unión de ligandos observado en estructuras resueltas de complejos ligando-receptor.

Diseño basado en estructura del receptor

La disponibilidad de estructuras de complejo ligando-receptor es extremadamente útil, pues ello proporciona

información detallada acerca de las interacciones específicas que guían el reconocimiento y la unión del ligando, y abre la puerta a la exploración del efecto de modificaciones en su estructura sobre la afinidad de unión, lo cual es de especial relevancia en la optimización del ligando (lead optimization). Ello es factible mediante estudios avanzados de la unión ligando-receptor, que combinan el uso de campos de fuerza clásicos junto a metodologías que permiten el muestreo exhaustivo de los grados de libertad del complejo, incluyendo una representación detallada del entorno acuoso formado por miles de aguas de solvatación y en determinadas condiciones de fuerza iónica⁷.

Entre dichas técnicas cabe destacar la perturbación de energía libre y la integración termodinámica, que representan la nueva alquimia computacional, pues permiten explorar in silico la mutación de un compuesto determinado en otro gracias al uso de ciclos termodinámicos (Figura 4).

La mutación se lleva a cabo mediante el uso de un parámetro de acoplamiento, que permite simular la conversión entre dichos compuestos gracias a la variación progresiva tanto en sus características geométricas, así como de los respecti-

vos parámetros recogidos en el campo de fuerza. Ello permite, pues, explorar el impacto que tiene la conversión, por ejemplo, entre sustituyentes o grupos funcionales presentes en ambos compuestos en su afinidad relativa frente a la diana macromolecular.

Tanto la perturbación de energía libre como la integración termodinámica representan las técnicas más poderosas de cara a diferencias en afinidad con una precisión de ~1 kcal/mol. Su mayor limitación, sin embargo, es el elevado coste computacional que conllevan, pues según el tamaño del sistema, la naturaleza de la mutación química entre compuestos y la potencia de cálculo puede representar varios días por cada ligando. Por ello, gran parte del esfuerzo realizado en estos últimos años se ha centrado al desarrollo de metodologías alternativas que permitan reducir de forma significativa el coste computacional sin que ello suponga una pérdida drástica en la capacidad para predecir las diferencias de afinidad entre ligando. Probablemente, las técnicas más exploradas en la actualidad son los métodos MM/PBSA (o MM/GBSA), donde se combina una descripción discreta del complejo ligando-receptor con un tratamiento simplificado del solvente basa-

do en un modelo continuo^{7,8}.

Predicción de propiedades ADMET

Si bien la afinidad entre ligando y receptor es una de las características más importantes en el desarrollo de un fármaco, existe una progresiva conciencia acerca de la necesidad de evaluar a priori las propiedades farmacocinéticas, con el fin de excluir aquellos compuestos que puedan tener problema de biodisponibilidad, una metabolización inadecuada o bien dar lugar a problemas de toxicidad. En este sentido, la posibilidad de disponer de filtros adecuados que permitan focalizar el esfuerzo exclusivamente en compuestos con buenas cualidades tipo fármaco es de vital importancia de cara a reducir el enorme coste asociado al desarrollo de un nuevo medicamento.

Gran parte de esta preocupación cabe atribuirle a los estudios de Lipinski⁹, quien sugirió un conjunto de reglas empíricas que debía reunir un compuesto para ser considerado como “drug-like”, tales como una masa molecular inferior a 500, un coeficiente de partición-agua inferior a 5, un número de grupos dadores inferior a 5, y un número de grupos aceptores de puente de hidrógeno inferior a 10. El impacto de estos estudios ha sido tan grande que ha motivado su extensión a otras propiedades, como la capacidad de fármacos que deben actuar en el sistema nervioso central para atravesar la barrera sangre-cerebro.

La identificación de las posibles biotransformaciones metabólicas que puede sufrir un

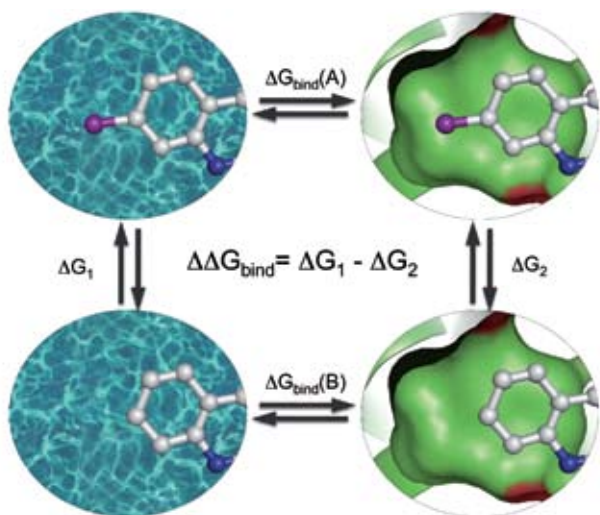


Figura 4. Ciclo termodinámico usado para calcular el efecto de una sustitución sobre la energía libre de unión ligando-receptor.

fármaco es relevante de cara comprender su eficacia farmacológica. Por ello, se está dedicando un notable esfuerzo en la predicción de los procesos metabólicos que puede sufrir un candidato a fármaco en la fase de descubrimiento, y en base a dicha información decidir si dicho compuesto debe ser eliminado o bien si es necesario modificar su estructura para incrementar su estabilidad química. Un ejemplo de dicho esfuerzo es el programa MetaSite, que permite explorar en base a la estructura del ligando posibles modificaciones metabólicas asociadas a su interacción con citocromos¹⁰.

La predicción de la toxicidad de un compuesto es particularmente delicada, pues los efectos tóxicos dependen en gran medida de diversos factores, como el órgano donde se encuentra la diana terapéutica y del tiempo considerado¹¹. No obstante, entre las áreas exploradas cabe mencionar la posible aparición de efectos tóxicos debido a la falta de selectividad del ligando, por cuanto ello permite su interacción con dianas diferentes de aquella para la cual fue diseñado. Ello es especialmente relevante en dianas que pertenecen a familias de proteínas

relativamente grandes, tales como quinasas, proteasas o receptores nucleares. En estos casos, es posible plantear un screening inverso con objeto de determinar la capacidad de un ligando de interactuar con diversos posibles receptores¹².

Perspectivas futuras

Si bien la evolución de la química computacional en las últimas décadas ha considerado tanto aspectos farmacodinámicos como farmacocinéticos, no hay duda de que una de los campos de aplicación futura será la validación de posibles dianas terapéuticas. Aunque existe incertidumbre acerca del número de nuevas dianas que podrán ser propuestas en bases a los estudios de genómica y proteómica, cabe esperar que se identifiquen un número elevado de posibles dianas, que a su vez deberán ser validadas de cara a su uso en el diseño de estrategias terapéuticas¹³. En este punto, la química computacional puede contribuir en diversas facetas. Una de ellas comprende la predicción y refinado estructural de las dianas, lo cual es especialmente importante en aquellos casos donde la elucidación estructural es problemática, bien debido a su

naturaleza como receptores de membrana, como es el caso de receptores acoplados a proteína G, o bien identificando posibles estados conformacionales en el caso de receptores flexibles. Por otra parte, un área de particular relevancia es la elucidación de aquellas áreas del receptor, como centro catalítico o alostéricos, susceptibles de acomodar pequeños ligandos con elevada afinidad¹⁴, pues ello permitirá evaluar la capacidad de dicha diana de poder tener un efecto terapéutico destacado en el tratamiento de una determinada patología. Finalmente, la incorporación de información relativa a grandes complejos multiméricos integrados en rutas de señalización o redes de regulación conducirá a un conocimiento detallado de la respuesta biológica de un fármaco¹⁵. Sin duda, ello facilitará una comprensión mucho más completa y detallada de la acción y eficacia terapéutica de un fármaco, y abrirá muchas

más posibilidades para el desarrollo de tratamientos terapéuticos innovadores. •

- ¹ Fischer, E. Ber. Dtsch. Chem. Ges. 1894, 27, 2985.
- ² Gohlke, H.; Klebe, G. Angew. Chem. Int. Ed. 2002, 41, 2644.
- ³ Cramer, R. D., III; Patterson, D. E.; Bunce, J. D. J. Am. Chem. Soc. 1988, 110, 5959.
- ⁴ Klebe, G.; Abraham, U.; Mietzner, T. J. Med. Chem. 1994, 37, 4130.
- ⁵ Ruiz, J.; Pouplana, R. QSAR 2002, 21, 605.
- ⁶ In silico Screening. Luque, F. J.; Barril, X. En Protein Surface Recognition: Approaches for Drug Discovery (Giralt, E.; Peczu, M.; Salvatella, X., eds.) John Wiley & Sons. 2008.
- ⁷ Orozco, M.; Luque, F. J. Chem. Rev. 2000, 100, 4187.
- ⁸ Stoica, I.; Sadiq, S. K.; Coveney, P. V. J. Am. Chem. Soc. 2008, 130, 2639.
- ⁹ Lipinski, C. A. Adv. Drug. Deliv. Rev. 1997, 23, 3.
- ¹⁰ Cruciani, G.; Carosati, E.; De Boeck, B.; Ethirajulu, K.; Mackie, C.; Howe, T.; Vianello, R. J. Med. Chem. 2005, 48, 6970.
- ¹¹ Merlot, C. Curr. Opin. Drug. Discov. Devel. 2008, 11, 80.
- ¹² Aumann, T.; Matter, H. J. Med. Chem. 2002, 45, 2366.
- ¹³ Overington, J. P.; Al-Lazikani, B.; Hopkins, A. L. Nat. Rev. Drug. Disc. 2006, 5, 993.
- ¹⁴ Seco, J.; Luque F. J.; Barril, X. J. Med. Chem. 2009, en prensa.
- ¹⁵ Aloy, P.; Russell, R. B. Nat. Rev. Mol. Cell. Biol. 2006, 7, 188.

••• Fe de Erratas:

Artículo *Lipoxigenasa y glutamato racemasa: dos dianas terapéuticas*, editado en el número 2 de *Life Sciences Lab*:

Por un error tipográfico, los siguientes superíndices no aparecieron correctamente:

Párrafo inicial: "...la velocidad de una reacción entre 10^7 y 10^{12} veces, llegando incluso en algunos casos a factores de 10^{19} ?"

Pág. 30.2ª columna. ...esta molécula presenta más de 10^7 conformaciones...

Sobre la Autora:

Angels González-Lafont nació en Barcelona en 1961. Estudió en la Universitat Autònoma de Barcelona, donde recibió su Licenciatura en Química en 1984 y el Doctorado en Química en 1989. Realizó una estancia Post Doctoral con una beca Fullbright en la University of Minnesota (USA) bajo la supervisión del Prof. D. G. Truhlar. En diciembre de 1992 consiguió una plaza permanente de Profesor Titular en el Departamento de Química de la Universitat Autònoma de Barcelona. Hasta el día de hoy ha publicado más de 100 artículos en revistas de alto nivel y ha supervisado 8 tesis doctorales en química teórica. Su investigación está centrada en el estudio teórico de los mecanismos involucrados tanto en procesos atmosféricos como en reacciones de catálisis enzimática. El estudio de estos mecanismos va desde los aspectos puramente electrónico-estructurales hasta la inclusión de la contribución dinámica de los núcleos. El cálculo teórico de las constantes de velocidad de estos procesos en función de la temperatura y/o la presión, se hace mediante el uso de la Teoría Variacional del Estado de Transición y la inclusión del efecto túnel juntamente con la resolución de la *Master Equation*