



Diseño Racional de Fármacos



Cribado Aleatorio (High-Throughput Screening - HTS)

El screening aleatorio (o cribado de alto rendimiento, HTS por sus siglas en inglés) es una estrategia de descubrimiento de fármacos empírica y no dirigida. **Consiste en probar de forma masiva y sistemática grandes bibliotecas de compuestos químicos (decenas o cientos de miles) contra un blanco biológico (target) previamente definido, con la esperanza de identificar uno o unos pocos "candidatos" o "hits" que muestren la actividad biológica deseada**.

Características clave del proceso:

- Enfoque ascendente que o requiere un conocimiento profundo de la estructura del blanco o del mecanismo de la enfermedad. Solo se necesita un ensayo biológico robusto que permita medir la actividad (ej., inhibición de una enzima, unión a un receptor) de manera automatizada.
- Es un proceso altamente robotizado y paralelizado, capaz de testear miles de compuestos por día. Las bibliotecas de compuestos pueden ser de origen:
 - Sintético: Compuestos creados por química combinatoria.
 - Natural: Extractos de plantas, microorganismos marinos, hongos, etc.
- El resultado primario es la identificación de "hits", compuestos que muestran un nivel de actividad por encima de un umbral estadístico predefinido.

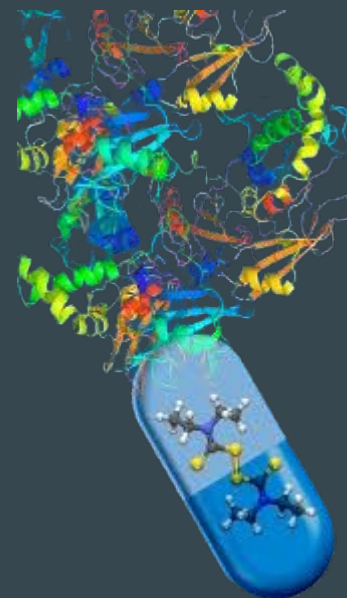


Cribado Aleatorio: limitaciones

- La construcción y mantenimiento de una plataforma de HTS y de bibliotecas químicas masivas es extremadamente costosa.
- Los ensayos a tan alta escala son propensos a interferencias (ej., compuestos que fluorescen, agregados proteicos), generando resultados engañosos, generando falsos positivos/negativos.
- Algunos compuestos "Compuestos Panacea" aparecen como activos en múltiples ensayos diferentes no relacionados debido a mecanismos no específicos o artefactos experimentales.
- La gran mayoría (>99.9%) de los compuestos testeados son inactivos, lo que se considera un uso ineficiente de recursos.

El HTS puro ha evolucionado., hoy en día es común encontrar:

- Se utiliza el conocimiento del blanco (docking) o de ligandos (farmacóforo) para filtrar in silico (Screening Virtual) bibliotecas enormes y seleccionar solo un subconjunto pequeño (ej., 1000 compuestos) para testear experimentalmente. Esto reduce drásticamente el costo y el tiempo del HTS tradicional.
- En lugar de bibliotecas aleatorias, se prueban bibliotecas enriquecidas con compuestos que se sabe que interactúan con familias de blancos similares (Screening Dirigido).

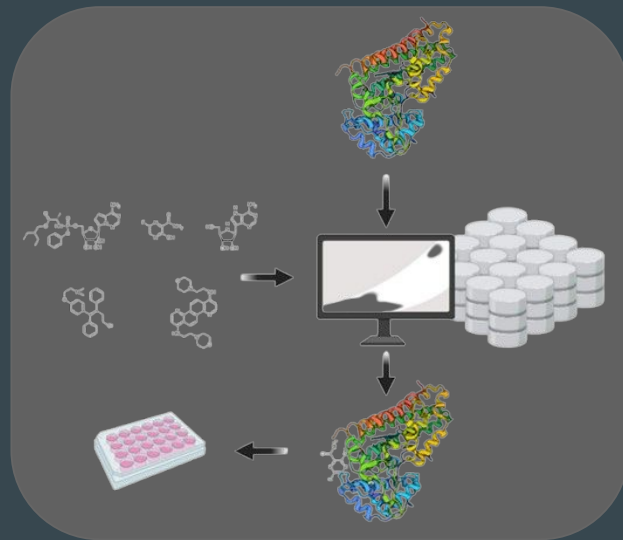


Diseño Racional de Fármacos

El diseño racional de fármacos es un proceso que utiliza el conocimiento de la estructura biológica y molecular de un blanco terapéutico (target) para diseñar nuevos fármacos de manera eficiente y dirigida. El diseño racional de fármacos se centra principalmente en el descubrimiento de dianas y compuestos líderes y la optimización de candidatos tipo fármaco, donde se incorporarán datos exhaustivos sobre las características bioquímicas y estructurales de una diana proteica.

En general, el descubrimiento de fármacos consta de las siguientes etapas:

- Identificación, caracterización y validación de dianas
- Desarrollo, optimización y resolución de problemas de ensayos
- Identificación y optimización de moléculas líderes
- Estudios de absorción, distribución, metabolismo, excreción y toxicidad (ADMET)
- Ensayos clínicos

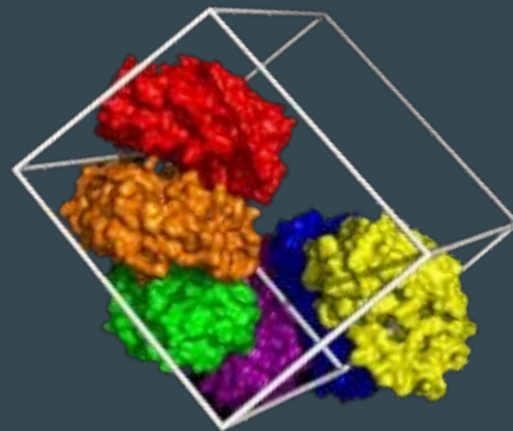


Diseño Racional de Fármacos: enfoque basado en el blanco

El DRFBD se basa en la estructura biológica tridimensional de la diana de interés y sus datos relevantes obtenidos mediante enfoques computacionales (como el modelado por homología) o experimentales. Estas dianas pueden ser proteínas, receptores o enzimas.

El DRFBD monitorea de manera precisa las capacidades de unión de las moléculas ligando seleccionadas a la región diana deseada y prevé los posibles sitios esenciales de unión presentes en la diana, seguido de la evaluación de la afinidad de los ligandos por su diana biomolecular respectiva. El método SBDD incluye los siguientes pasos clave:

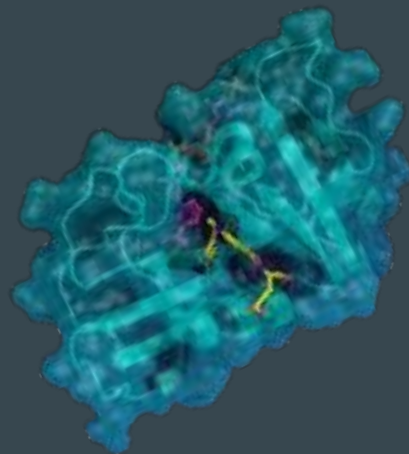
- Preparación de la estructura proteica
- Identificación del sitio de unión en la proteína de interés
- Preparación de los ligandos
- Funcionalidades de acoplamiento molecular (docking) y puntuación (scoring)



Diseño Racional de Fármacos: enfoque basado en el blanco

Los desafíos y limitaciones en el DRFBD incluyen:

- **La flexibilidad de la diana durante el acoplamiento molecular** y el modelado debe tenerse en cuenta, ya que la naturaleza estática de la diana todavía se utiliza en algunos métodos DRFBD. Ignorar la flexibilidad de la diana conduce a la identificación de ligandos inexactos y falsos en el programa diseñado.
- **Considerar las moléculas de agua en el entorno de la diana sería esencial**, ya que estas poseen y facilitan interacciones de puentes de hidrógeno y contribuyen a la energía libre en el complejo proteína-ligando.
- El papel de la **solvatación para las moléculas de fármaco solvatadas** en el acoplamiento molecular es muy importante, pero incluir el efecto de solvatación sería muy difícil; por lo tanto, las funciones de puntuación (scoring) finales de los compuestos líderes se verán ampliamente afectadas.

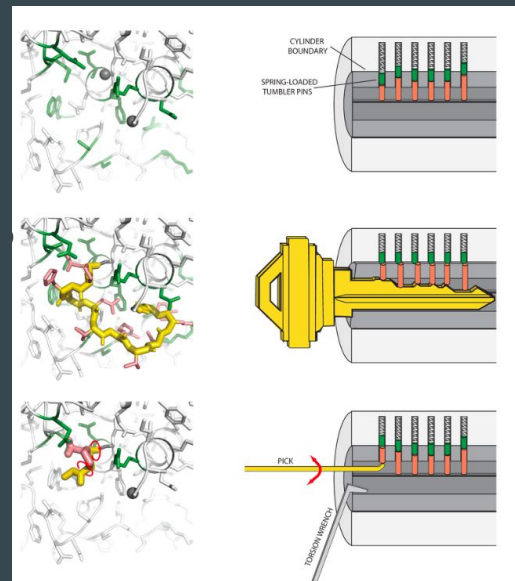
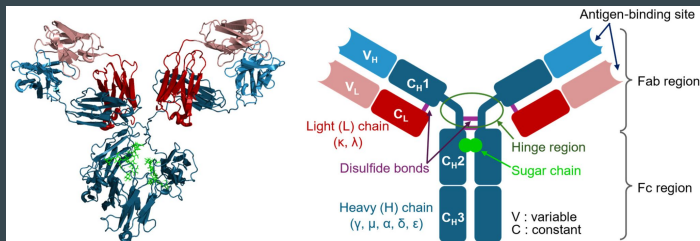


Diseño Racional de Fármacos: teorías de receptores

Los receptores de fármacos son macromoléculas, generalmente proteínas, que reciben la unión o interacción con ligandos/compuestos farmacológicos para proceder con una respuesta efectora. La presencia de receptores de fármacos abarca desde la membrana celular y las regiones citosólicas hasta las áreas intranucleares de la célula. La respuesta efectora podría ser un efecto terapéutico o un efecto adverso.

TEORÍA LLAVE CERRADURA

Las interacciones entre el fármaco y el receptor se asignan y designan como modelos de llave y cerradura, propuesto por Emil Fischer (finales del siglo XIX). El receptor se considera una cerradura que contiene una región con sitios activos y diferentes tipos de bolsillos, mientras que el candidato a fármaco, como una llave, puede unirse a los receptores para producir un cambio conformacional, seguido de efectos terapéuticos.

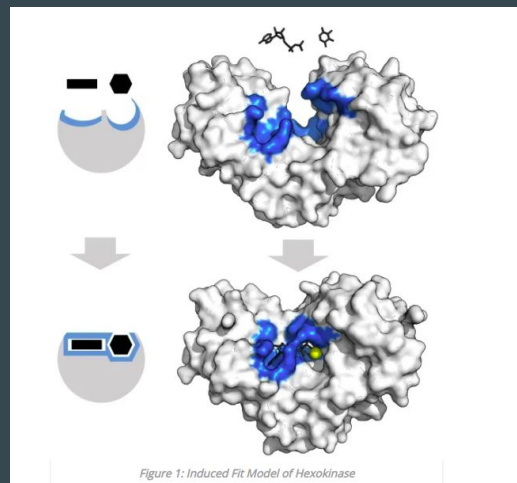
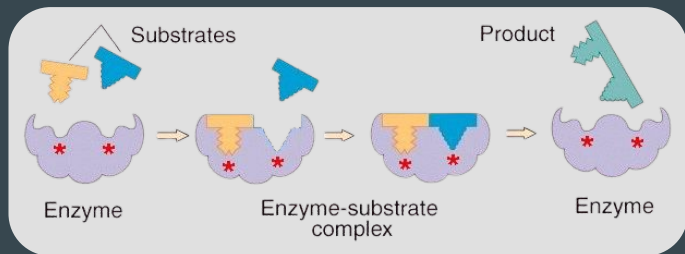


Diseño Racional de Fármacos: teorías de receptores

TEORÍA DEL AJUSTE INDUCIDO

El sustrato mismo puede causar una modificación significativa en la estructura tridimensional de la estructura del sitio de unión/activo del receptor/enzima. Daniel Koshland (1958) propone la idea de que la unión del ligando induce un cambio conformacional en la proteína; la proteína se “moldea” alrededor del ligando.

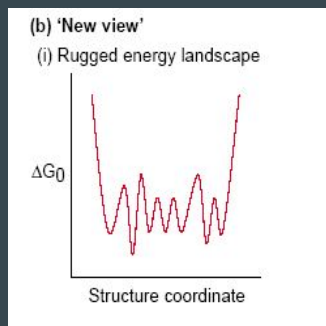
Esto implica sitios más flexibles, la afinidad puede depender de cambios estructurales posteriores al contacto inicial.



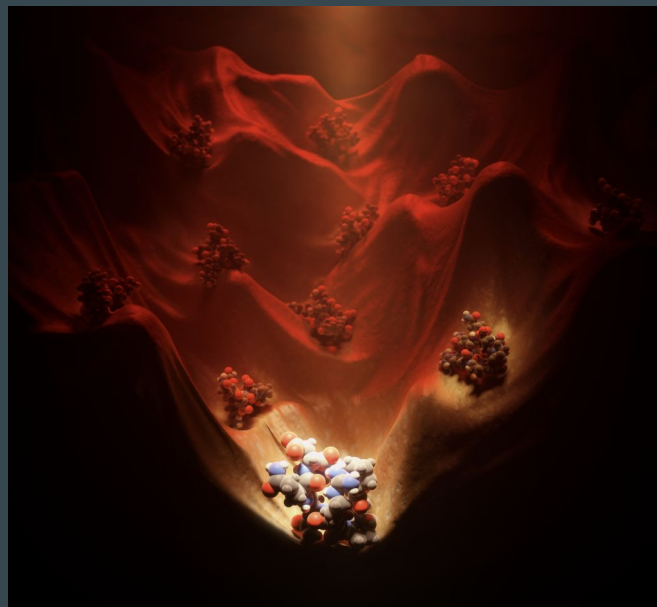
Diseño Racional de Fármacos: teorías de receptores

TEORÍA SELECCIÓN CONFORMACIONAL

La proteína existe en un equilibrio de conformaciones (preexistentes); el ligando selecciona y estabiliza una de ellas. La unión ocurre porque la conformación adecuada ya existe, aunque en baja fracción, y el ligando la “captura”.



Fred Karush, 1950



Diseño Racional de Fármacos: enfoque basado en el ligando

Se utiliza cuando la estructura del blanco es desconocida, pero se conocen ligandos (ej. un sustrato natural, un fármaco existente) que se unen a él. Se infieren las características necesarias para la unión a partir de estos ligandos conocidos. El DRBL es típicamente un método indirecto para acelerar el desarrollo de moléculas de fármacos terapéuticamente activas mediante la interacción potencial de candidatos tipo fármaco con la diana de interés.

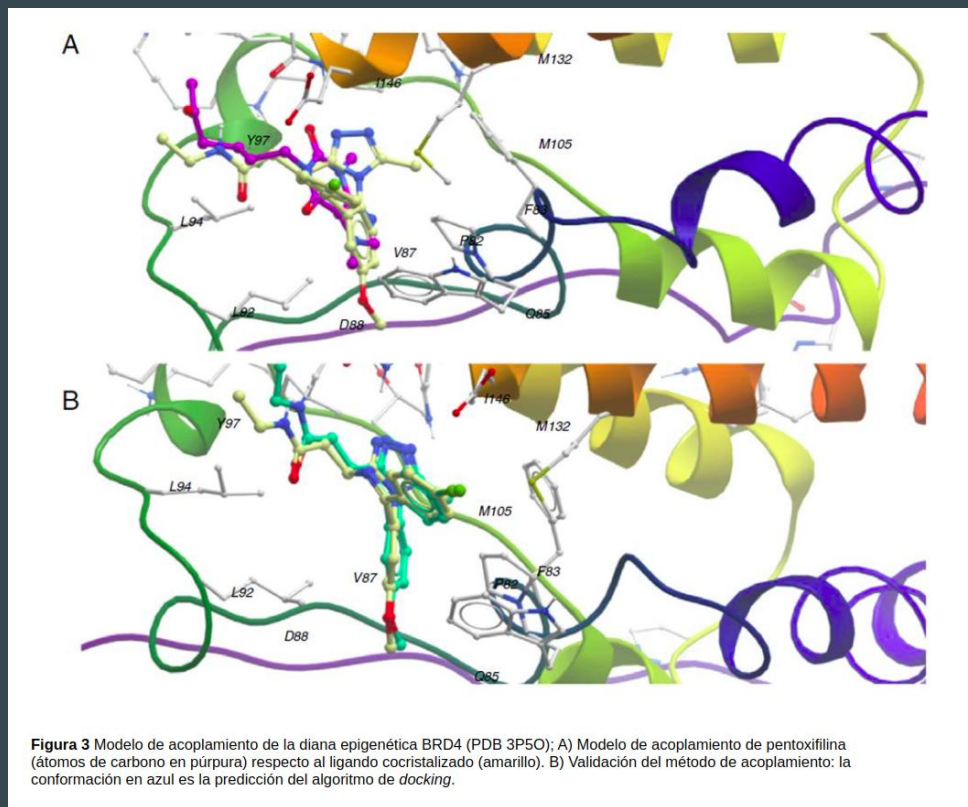
Técnicas comunes que suelen combinarse:

- Relación Cuantitativa Estructura-Actividad (QSAR): Modelos estadísticos que predicen la actividad biológica en función de descriptores moleculares.
- Modelado Farmacóforo: Identifica las características estructurales abstractas esenciales para la actividad biológica (ej. un donador de hidrógeno, un anillo aromático).

Farmacóforo: se define como un arreglo tridimensional de las características mínimas necesarias estéricas y electrónicas para asegurar interacciones óptimas con un blanco farmacológico específico, lo cual desencadenará o bloqueará una respuesta biológica.

El LBDD asistido computacionalmente podrían implementarse en los profármacos, donde la biodisponibilidad y la especificidad de las moléculas parentales se aumentarían mediante la administración de profármacos

Diseño Racional de Fármacos: enfoque basado en el ligando



Mediante búsquedas por similitud molecular se encontró que la pentoxifilina es un potencial inhibidor de BRD4 (bromodomain de la familia BET); en púrpura se muestra la conformación del ligando propuesto, que es semejante a la orientación del ligando cocrystalizado (A).

Las proteínas BET desempeñan un papel crucial en la regulación de la transcripción génica a través de interacciones epigenéticas entre bromodominios e histonas acetiladas durante los procesos de proliferación y diferenciación celular.

Diseño Racional de Fármacos: enfoque basado en el blanco

Falsa expectativa	Visión realista
Las computadoras pueden diseñar fármacos	Los métodos computacionales no diseñan fármacos por sí solos; forman parte de un esfuerzo multidisciplinario para alcanzar un objetivo extremadamente complejo
Un cálculo teórico (por ejemplo de acoplamiento molecular o <i>docking</i>) demuestra la unión fármaco-blanco molecular	Cálculos de acoplamiento molecular dan hipótesis y proponen modelos de unión; se utilizan como apoyo a los experimentos que son los que demuestran la unión
Se puede diseñar fármacos apretando botones (<i>push-a-bottom drug discovery</i>)	El DIFAC es un proceso que requiere gran cantidad de preparación, análisis e interpretación de resultados que se obtienen de la computadora
El DIFAC es rápido porque lo hacen las computadoras	No; la preparación de datos e interpretación de resultados, que forman parte fundamental del DIFAC, son procesos que requieren de un tiempo que puede durar meses