



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.

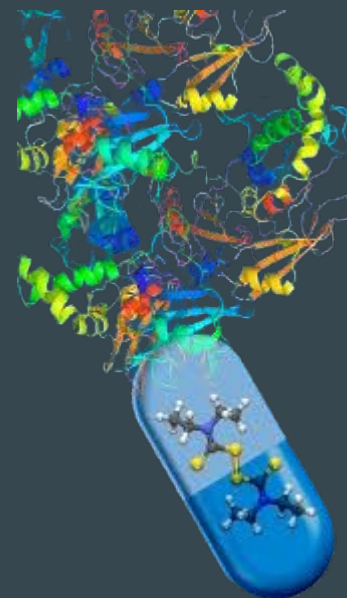


Cribado Aleatorio: limitaciones

- 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).

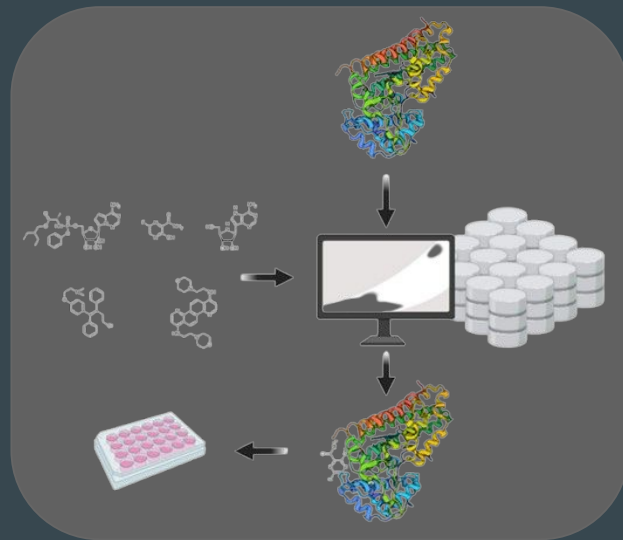


Diseño Racional de Fármacos

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

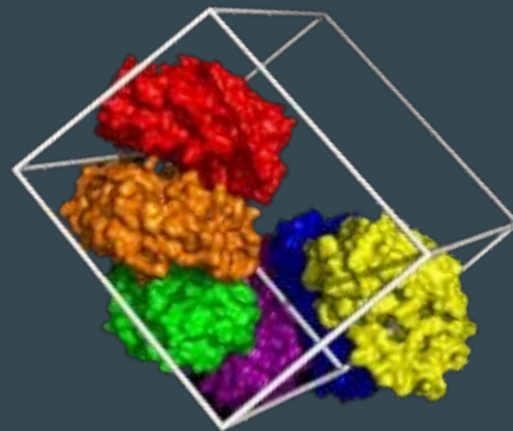


Diseño Racional de Fármacos: enfoque basado en el blanco

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:

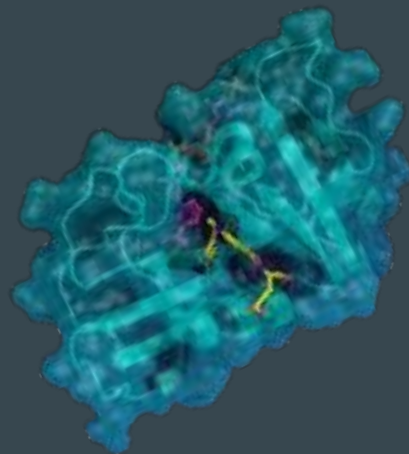
- Preparación de la estructura proteica
- Identificación del sitio de unión en la proteína de interés
- Preparación de los ligandos
- Funcionalidades de acoplamiento molecular (docking) y puntuación (scoring)



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.

Los investigadores Ehrlich y Langley iniciaron el trabajo sobre la teoría de receptores; posteriormente, el descubrimiento del propranolol (antagonista β -adrenérgico) convenció de la teoría de receptores y la existencia de receptores de fármacos. Las interacciones entre el fármaco y el receptor se asignan y designan como modelos de llave y cerradura. 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.

TEORÍA DE LA OCUPACIÓN

Basándose en la investigación de Langley, la teoría de la ocupación propone que la interacción entre receptores y ligandos podía describirse mediante una asociación matemática equivalente a la interacción del oxígeno y el dióxido de carbono con la hemoglobina. Postula que la magnitud de la respuesta farmacológica es proporcional al número de receptores ocupados por el ligando.

Diseño Racional de Fármacos: teorías de receptores

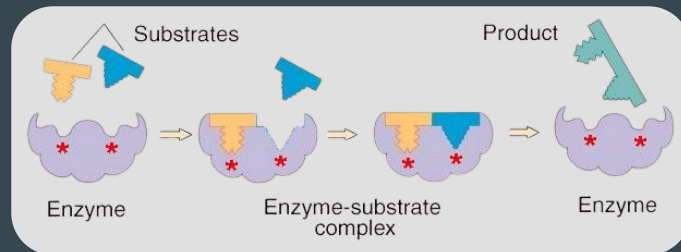
TEORÍA DE LA VELOCIDAD

La teoría de la velocidad se considera un enfoque alternativo a la teoría de la ocupación. Según esta teoría, la respuesta farmacológica es directamente proporcional a la velocidad con la que la molécula del fármaco activo se une a los receptores. Además propone que las constantes de velocidad de asociación y disociación eran esenciales para establecer la afinidad y la actividad terapéutica resultante de los ligandos. La proporción entre estas constantes determinaría el parámetro clave de "afinidad". La actividad del fármaco estaría determinada principalmente por la constante de velocidad de disociación. Es importante señalar que la "actividad intrínseca" utilizada en la teoría de la ocupación es reemplazada por la constante de disociación en esta teoría.

TEORÍA DEL AJUSTE INDUCIDO

Los principales postulados de la teoría del ajuste inducido son que se necesita una orientación definida de los grupos catalíticos para que se lleven a cabo las actividades enzimáticas. El sustrato mismo puede causar una modificación significativa en la estructura tridimensional de la estructura del sitio de unión/activo del receptor/enzima.

Como resultado de la modificación en la estructura proteica inducida por el sustrato, se produce un alineamiento apropiado de los grupos catalíticos. Por el contrario, una molécula que no sea sustrato no provocaría este efecto sobre los grupos catalíticos.



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:

- 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).

En la práctica, ambos enfoques suelen combinarse para maximizar las chances de éxito.

El LBDD también se relaciona con el diseño de fármacos asistido por computadora (CADD). La parte crucial del CADD es reducir el tiempo de identificación, caracterización y optimización estructural de nuevas moléculas de fármacos. Las ventajas o características del CADD 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: SAR y QSAR

SAR (Relación Estructura-Actividad) es un método para investigar la asociación cualitativa entre el farmacóforo, los grupos químicos o los grupos funcionales presentes en un compuesto ligando activo y su actividad farmacológica deseada.

QSAR (Relación Cuantitativa Estructura-Actividad) se define como el enfoque de cuantificación de la relación entre las estructuras químicas o el farmacóforo y la actividad biológica. Según el protocolo QSAR, se identifica una biblioteca de moléculas pequeñas que exhiben la actividad terapéutica deseada. Se establece una asociación cuantitativa entre los grupos farmacofóricos en las moléculas líderes y el potencial farmacológico. El modelo QSAR se considera una herramienta para la optimización de nuevas moléculas activas, con el fin de aumentar las eficacias terapéuticas de los compuestos seleccionados. El protocolo común de QSAR comprende los siguientes pasos:

- Identificación de ligandos con mediciones biológicas y experimentales
- Establecimiento de descriptores químicos relacionados con las diferentes propiedades estructurales y fisicoquímicas de los candidatos a fármacos.
- Investigación de la asociación entre los descriptores moleculares y la actividad farmacológica
- Evaluación del poder predictivo y la estabilidad estadística del modelo QSAR

La selección de descriptores moleculares y la capacidad de crear una asociación matemática adecuada entre estos descriptores y la eficacia farmacológica son pasos integrales para desarrollar un modelo QSAR.