



Universidad
de Concepción

FACULTAD DE
**CIENCIAS
BIOLOGICAS**
Universidad de Concepción



FARMACOLOGÍA MOLECULAR

1. Afinidad de Fármacos

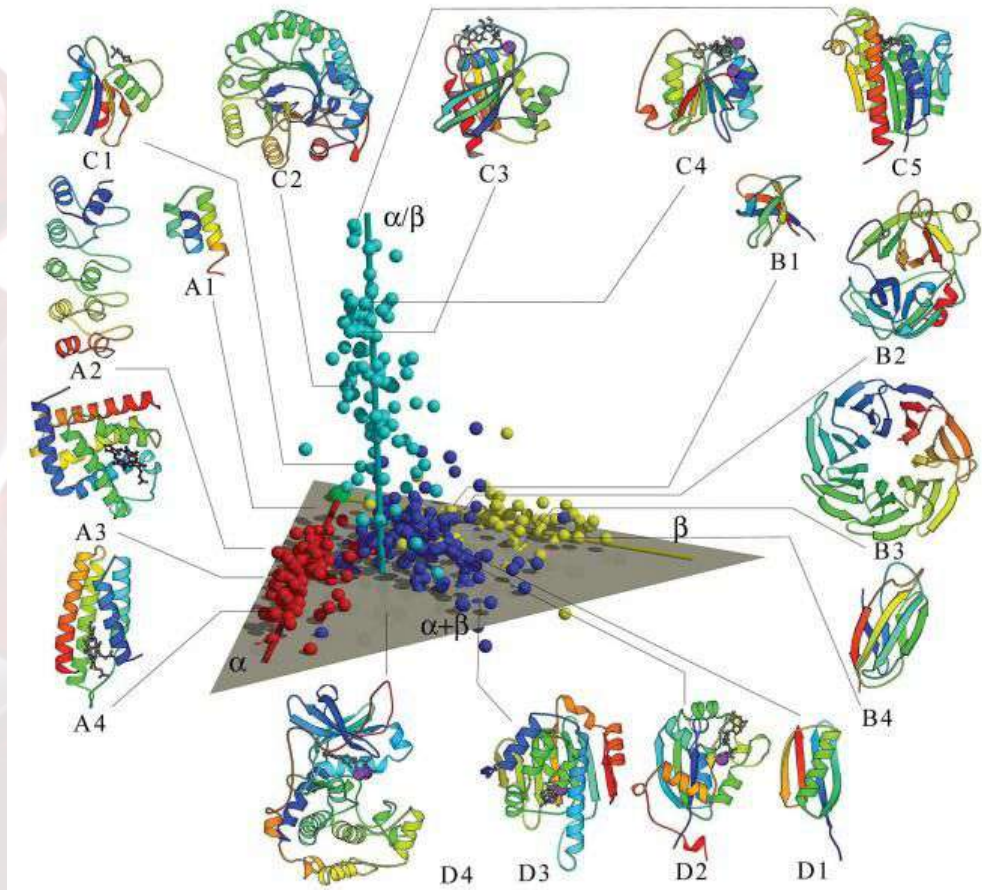
DR. ALEXIS SALAS BURGOS
V1.0

TEMARIO

- Cápsula de estructura de proteínas.
 - Niveles de estructuras de proteínas
 - Métodos para determinar la estructura tridimensional
 - El banco de Datos de Proteínas
 - Cambios conformacionales en Proteínas
- Propiedades de Ligandos
 - Hipótesis de unión de ligandos
 - Propiedades de ligandos
 - Lipinski
 - QED
- Energía de la Interacción con ligandos
 - Unión de ligandos BDR4.
 - Cambios de energía libre.
 - Afinidad del ligando
 - Componentes del delta G.

TEMARIO

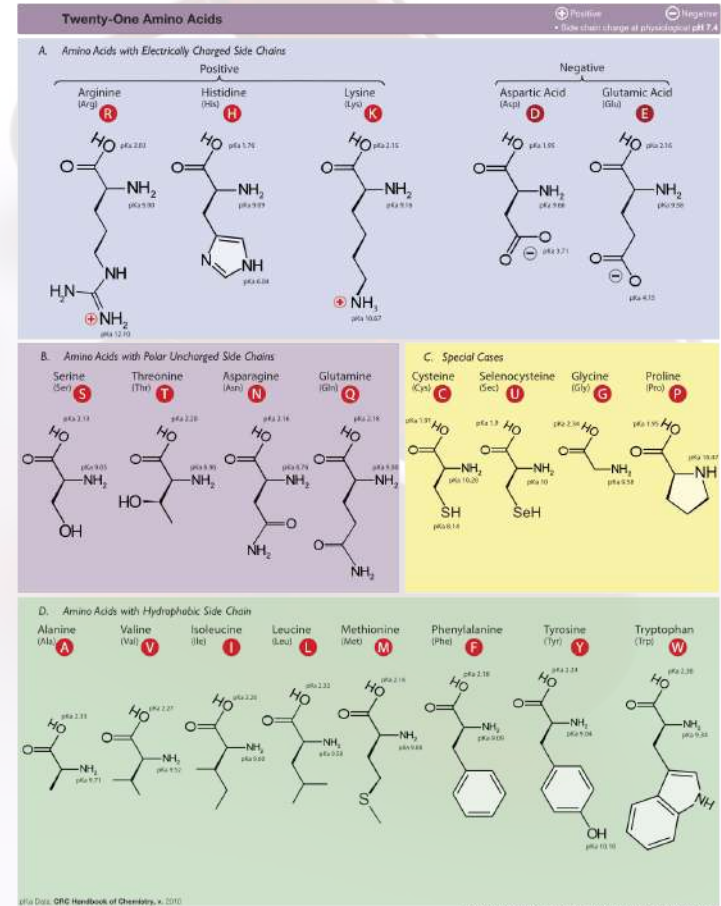
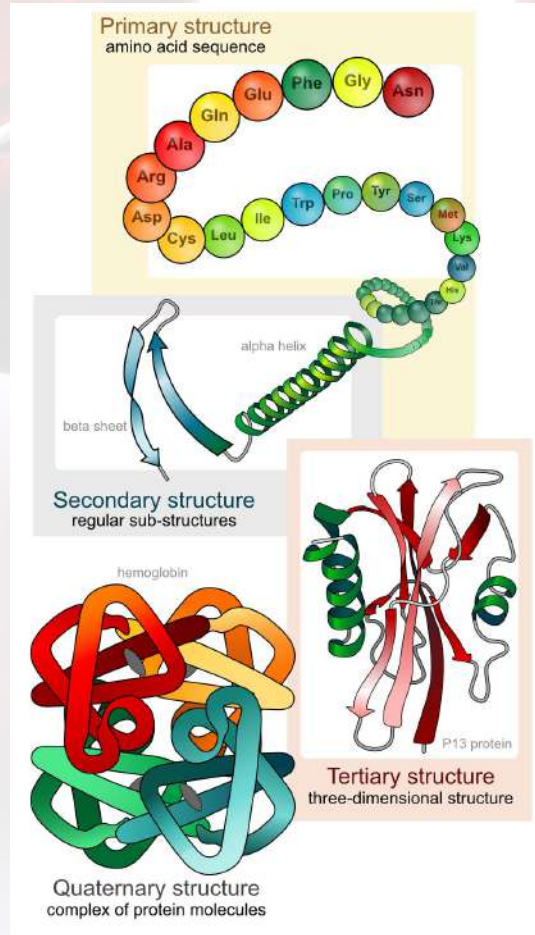
- Caso de Estudio.
 - Fases del diseño de Fármacos.
 - Ejemplos de fármacos diseñados.
 - La historia del neuroblastoma.
 - La historia del crizotinib.
 - Mecanismo del crizotinib.
 - Interacciones intermoleculares LigPlot+
 - Fase clínicas crizotinib.



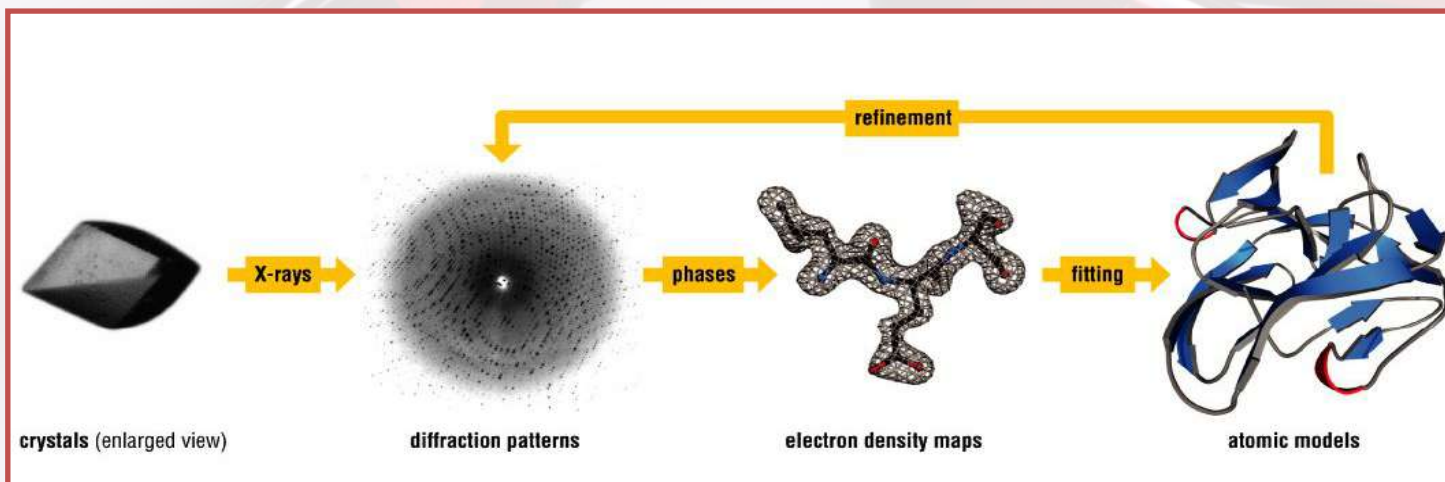
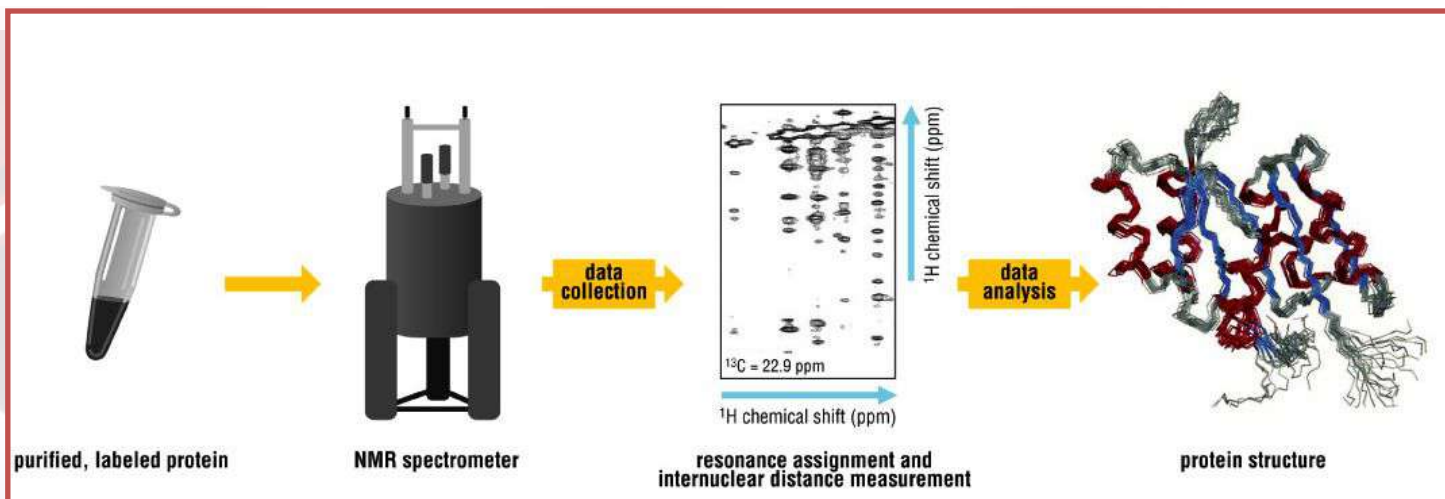
Cápsula de Estructura y Dinámica de Proteínas

Afinidad de Ligandos

Niveles de Estructura de Proteínas



¿Cómo se Obtiene la estructura 3D?



Banco de Datos de Proteínas

Customize This Page

Available on the App Store

↑ PDB-101 Hide

Structural View of Biology
Understanding PDB Data
Molecule of the Month
Educational Resources
Author Profiles

↑ MyPDB Hide

Login to your Account
Register a New Account
MyPDB Help Page

↑ Home Hide

News & Publications
Usage/Reference Policies
Deposition Policies
Website FAQ
Deposition FAQ
Contact Us
About Us
Careers
External Links
Sitemap
New Website Features

↑ Deposition Hide

Biological Macromolecular Resource

Full Description

↑ Learn: Featured Molecules Hide

Structural View of Biology List View of Archive By: Title | Date | Category

RCSB PDB-101

Biotechnology and Nanotechnology

Molecule of the Month
Designed Protein Cages

Scientists are great tinkers, and surprisingly, proteins can often be used like tinkertoys. The proteins found in cells have evolved to have a stable, folded structures. Scientists are now building on these stable proteins and making changes to engineer new functions. These functions include designing new enzymes, designing proteins with improved medicinal properties, and designing large complexes with a desired shape and size.

Full Article

Protein Structure Initiative Featured System
Serum Albumins and Allergies

Bovine serum albumin (BSA) and other mammalian serum albumins are specialists in binding molecules that are insoluble in water. They also bind to many drugs and affect their delivery through the blood, which is important when determining the proper dosage. And on top of all that, serum albumins also play a role in the handling of metal ions such as calcium, magnesium, zinc and copper. BSA is very similar to our own serum albumin, but in some people, the differences are enough to cause problems with allergies.

Full Article | Archive | PSI Structural Biology Knowledgebase

↑ New Features Hide

Latest release: September 2013

Improved 3D Visualization

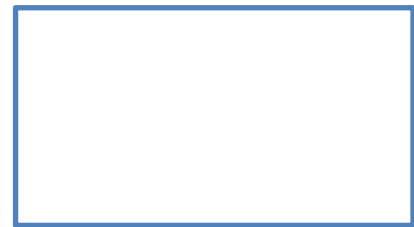
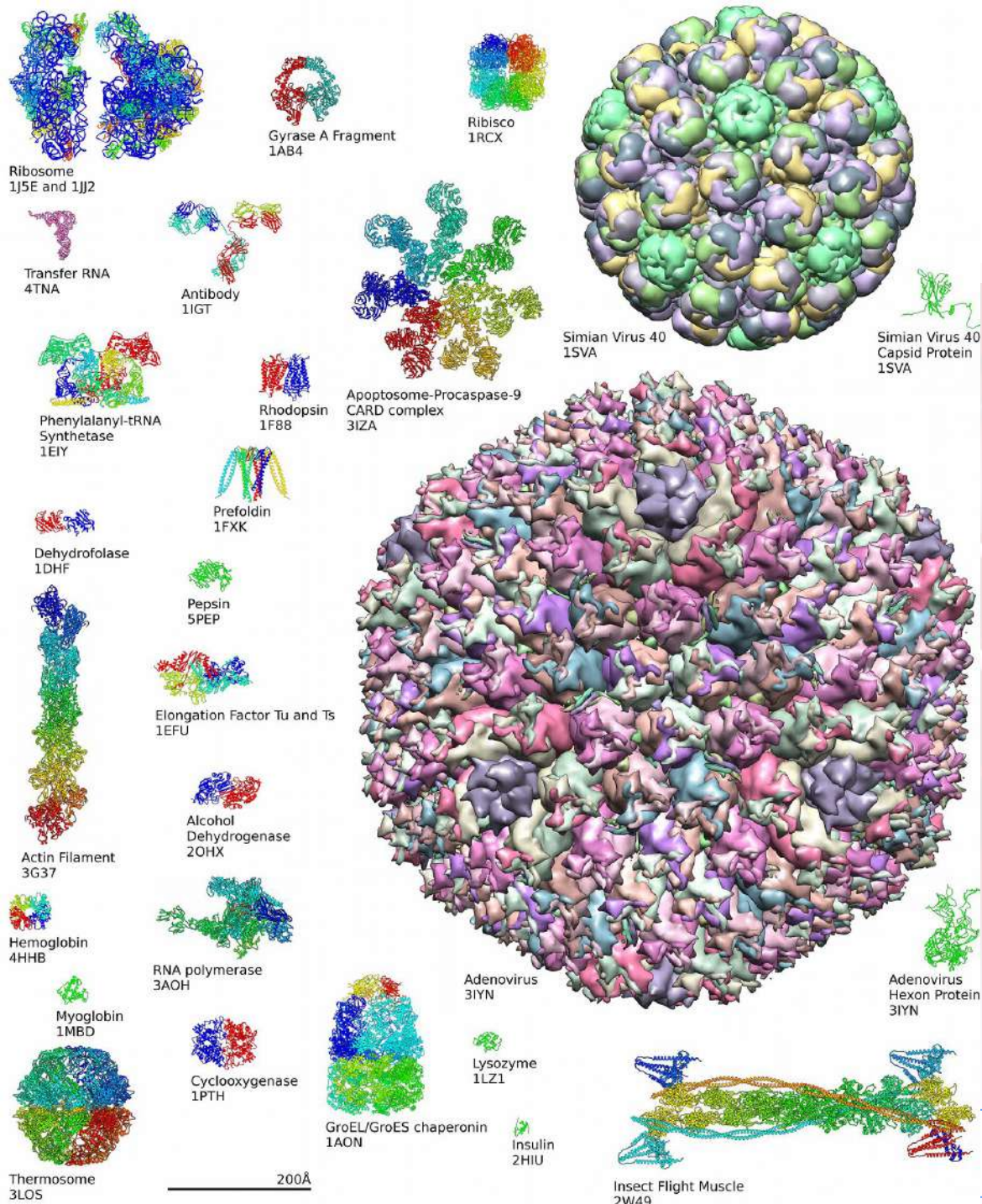
Improved interface for 3D visualization using Jmol

Website Release Archive: ↓

↑ RCSB PDB News Hide

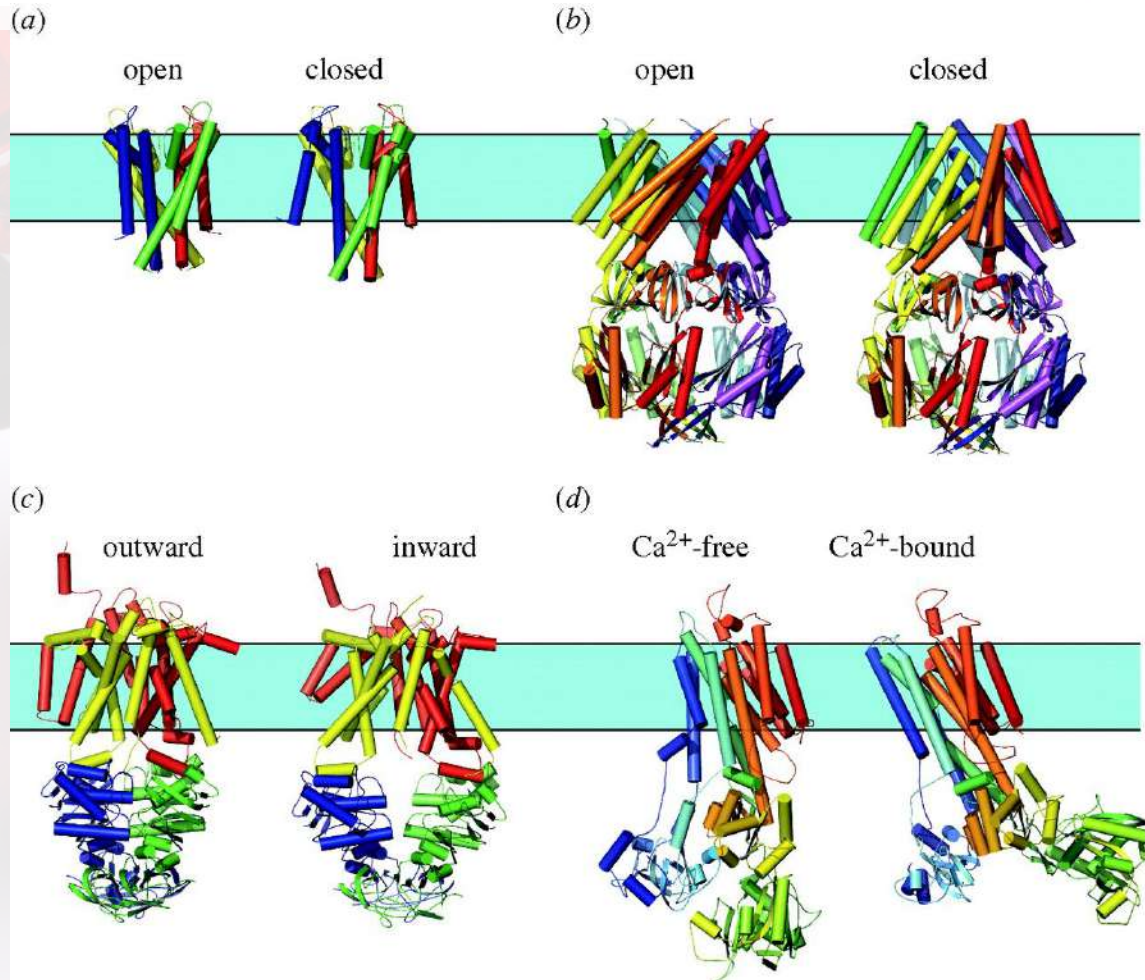
Weekly | Quarterly | Yearly

2013-09-24
wwPDB Public Symposium



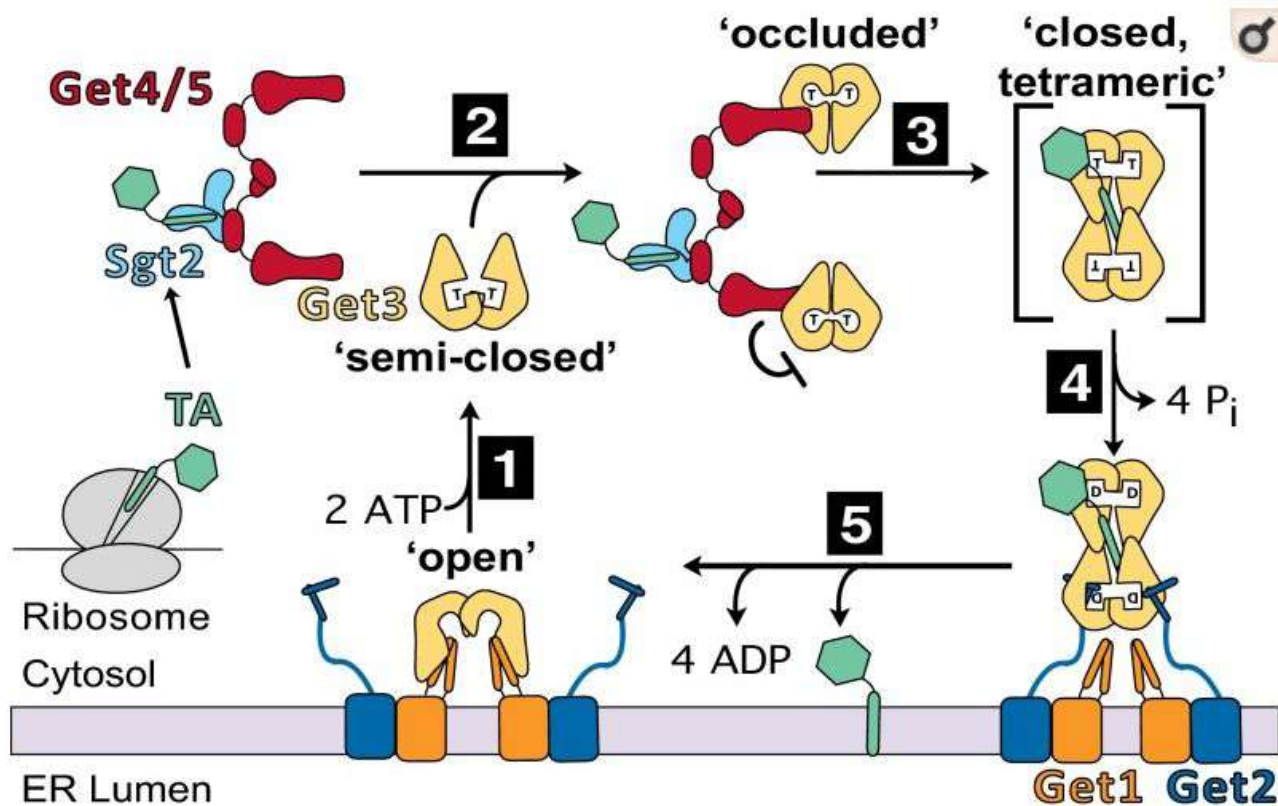
Tamaño de Proteínas

Conformaciones de proteínas



Conformaciones de proteínas

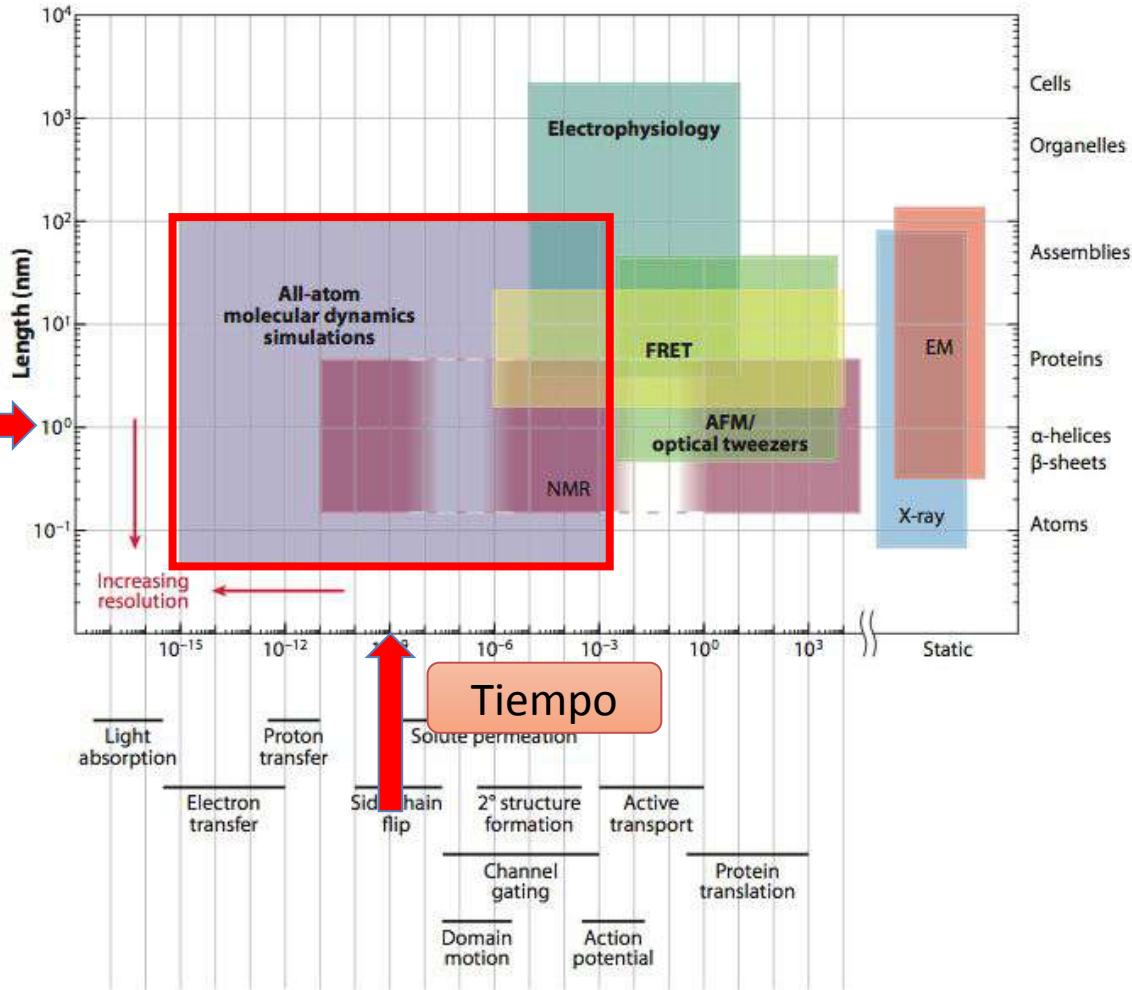
Fig. 6.



Model for TA protein targeting driven by the ATPase cycle of Get3, as described in the text.

Métodos para estudiar dinámica

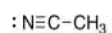
Espacio



neutral monodentate



ammine



acetonitrile



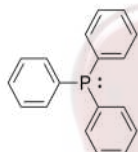
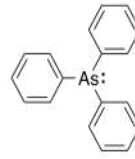
aqua



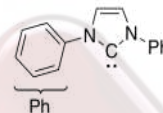
tetrahydrofuran (THF)



carbonyl

pyridine
(py)triphenylphosphine
(Ph₃P)tricyclohexylphosphine
(Cy₃P)

triphenylarsine

an N-heterocyclic
carbene

anionic monodentate



hydride



fluoride



chloride



bromide



iodide

halides



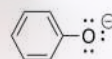
hydroxide



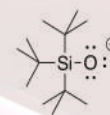
methyl



cyanide

phenoxide or
phenolate

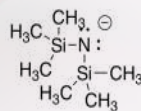
tert-butoxide



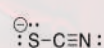
tri(tert-butyl)siloxide



amide

bis(trimethylsilyl)amide
or hexamethyldisilazide

azide



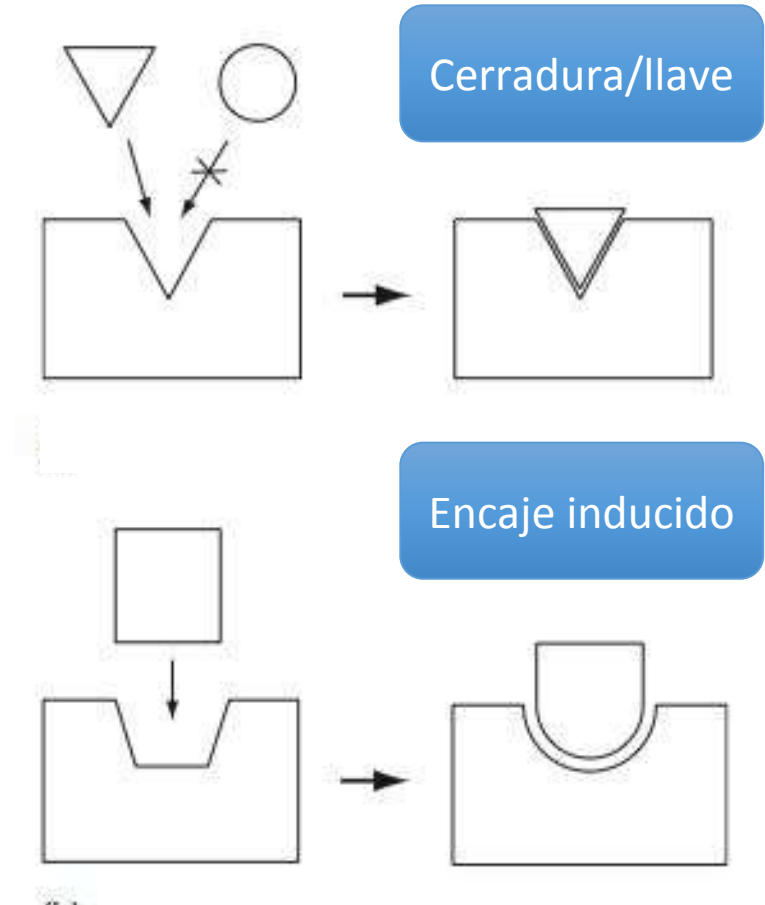
thiocyanate

Propiedades de Ligandos

Afinidad de Ligandos

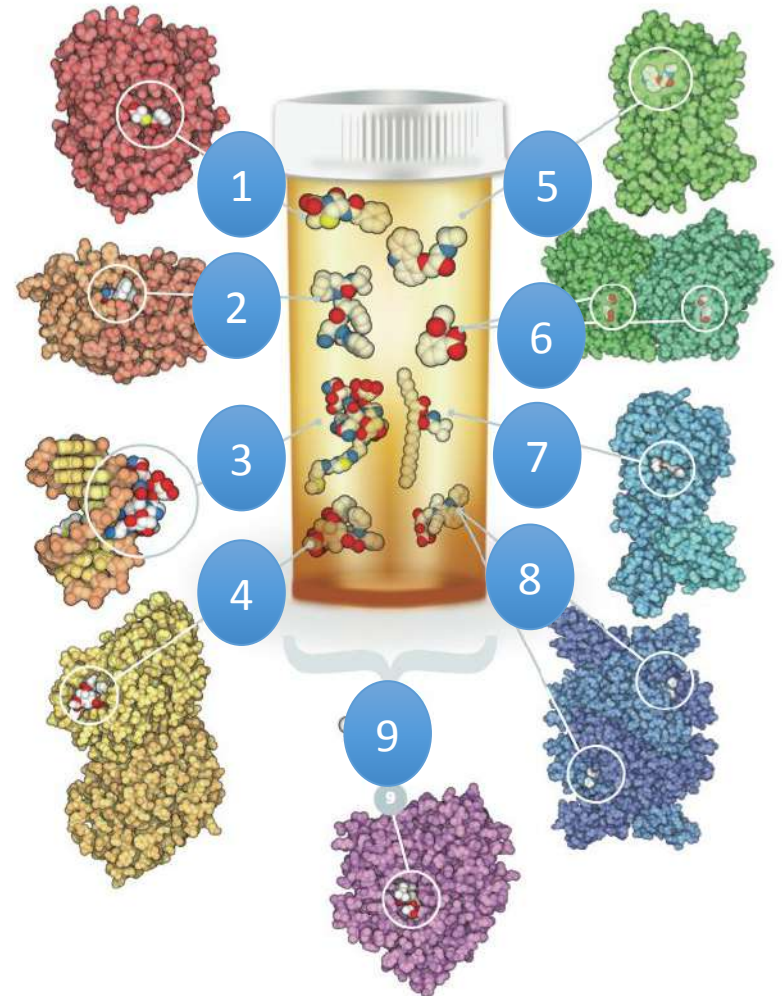
Hipótesis de interacciones proteína ligando

- Hipótesis de la “cerradura y llave” por Emil Fischer (1894).
- Hipótesis de “encaje inducido” por Koshland (1958).
- Complejo unido no covalentemente.



¿Cómo trabajan los fármacos?

- **Antibióticos y antivirales** son venenos específicos:
 1. D-alanil-D-alanina carboxipeptidasa con penicilina (1pwc).
 2. Proteasa del VIH con saquinavir (1hxb).
- **Quimioterapia contra el cáncer**
 3. DNA con bleomicina (1mxk).
 4. Tubulin con taxol (1jff).
- **Efecto sobre proteínas de señalización.**
 5. Receptor adrenérgico con carazolol (losartan) (2rh1).
 6. Prostaglandina H2 sintasa con aspirina (1pth).
- **Estilo de vida.**
 7. Lipasa Pancreática con un inhibidor (similar a orlistat) (1lpb).
 8. Reductasa de HMG-CoA con atorvastatina (1hwk).
- **Metabolismo de drogas.** Enzimas como el citocromo P450 continuamente buscan drogas y las destruyen. Esto es importante para evitar intoxicaciones de la dieta, medioambiente o medicación.
 9. Citocromo P450 3A4 con eritromicina (2j0d).



Propiedades de Ligandos

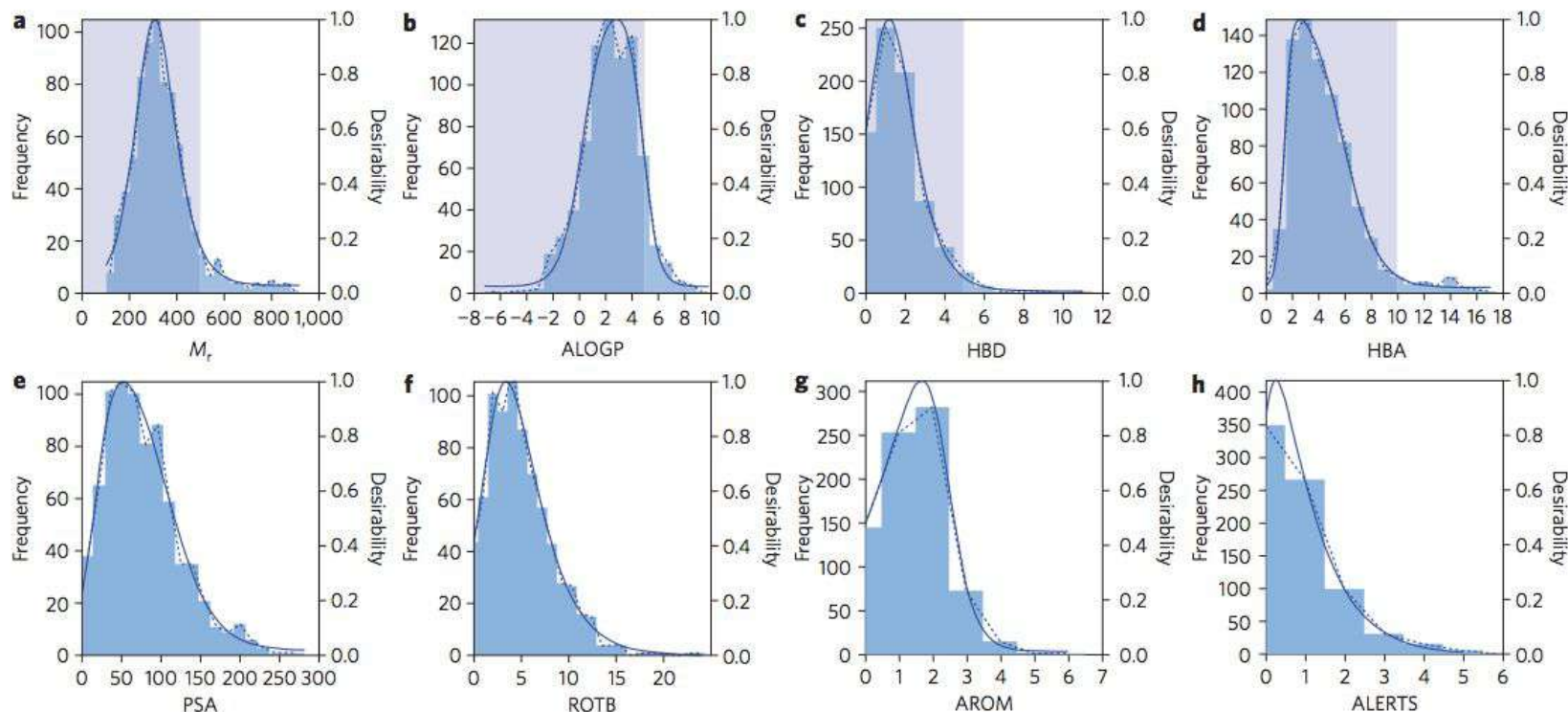


Figure 1 | Histograms of eight selected molecular properties for a set of 771 orally absorbed small molecule drugs. a-h, Molecular properties M_r (**a**), lipophilicity estimated by atom-based prediction of ALOGP (**b**), number of HBDs (**c**), number of HBAs (**d**), PSA (**e**), number of ROTBs (**f**), number of AROMs (**g**) and number of ALERTS (**h**). The Lipinski-compliant areas are shown in pale blue in (**a**), (**b**), (**c**) and (**d**). The solid blue lines describe the ADS functions (equation (2)) used to model the histograms. The parameters for each function are given in Supplementary Table S1.

Propiedades de Ligandos

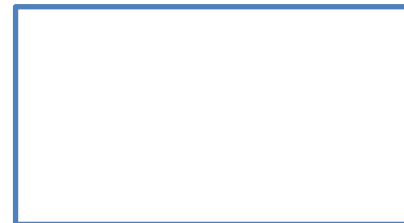
- **Masa:** Se calcula sumando todas las masas atómicas de dicho elemento.
- **LogP:** Es razón entre las concentraciones de esa sustancia en las dos fases de la mezcla formada por dos disolventes inmiscibles en equilibrio.
- **HBD:** Cantidad de átomos hidrógeno donadores para puentes.
- **HBA:** Cantidad de átomos hidrógeno aceptores para puentes.
- **PSA:** La suma de la superficie sobre todos los átomos polares, principalmente oxígeno y nitrógeno, también incluyendo sus átomos de hidrógeno unidos.
- **ROTB:** La cantidad de enlaces rotables
- **AROM:** La cantidad de átomos aromáticos.
- **ALERT:** Alertas estructurales de toxicidad.

C.A. Lipinski; F. Lombardo; B.W. Dominy and P.J. Feeney (1997). «Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings». *Adv Drug Del Rev* **23**: 3-25

LIPINSKI RO5

- No debe contener más de cinco donadores de puentes hidrógenos (N, O)
- No debe contener más de diez aceptores de enlaces por puentes de hidrógeno (N, O, F).
- Debe poseer un peso molecular inferior a 500 uma.
- Debe poseer un coeficiente de reparto octanol-agua ($\log P$) inferior a 5.

C.A. Lipinski; F. Lombardo; B.W. Dominy and P.J. Feeney (1997). «Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings». *Adv Drug Del Rev* **23**: 3-25



LIPINSKI RO5 - Actualización Ghose

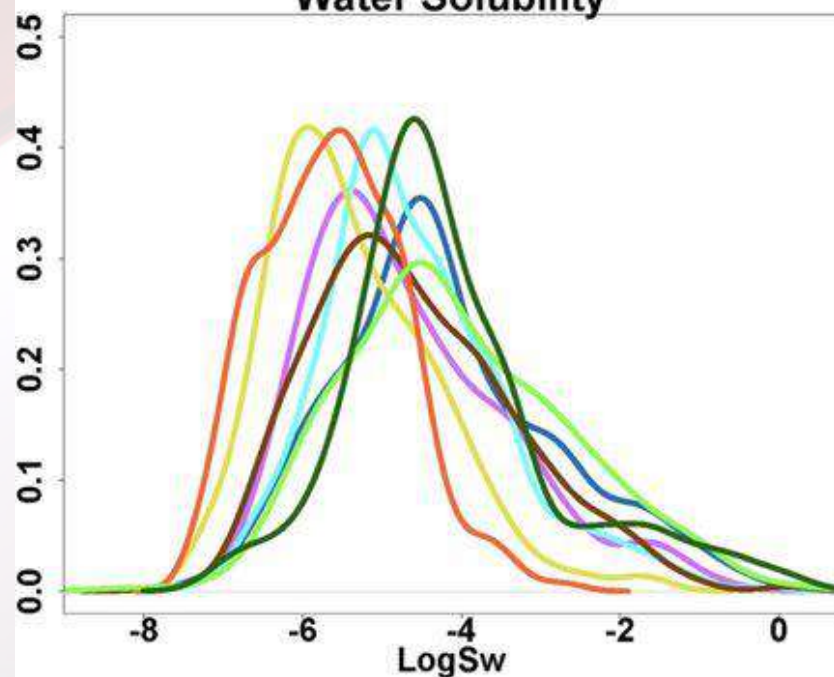
- El coeficiente de partición $\log P$ debe encontrarse entre -0.4 y +5.6.
- La refractividad molar debe situarse entre 40 y 130.
- La masa molecular debe ser mayor de 160 y menor de 500.
- El número de átomos debe estar entre 20 y 70 (incluyendo tanto a los donadores como a los aceptores de enlaces por puentes de hidrógeno).

Arup K. Ghose, Vellarkad N. Viswanadhan, and John J. Wendoloski (1999). «A Knowledge-Based Approach in Designing Combinatorial or Medicinal Chemistry Libraries for Drug Discovery». J. Combin. Chem. 1: 55-68.

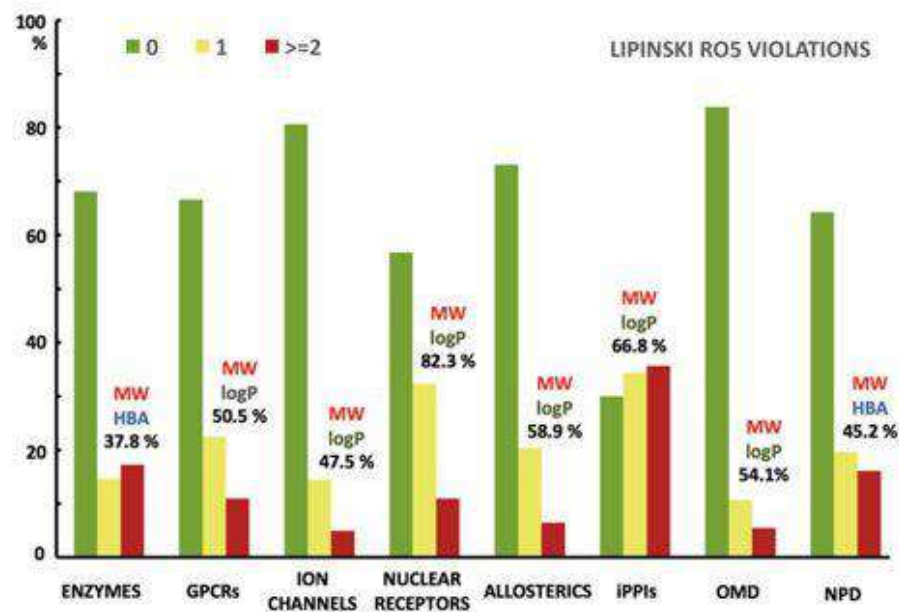
LIPINSKI RO5

(a)

Water Solubility



(b)



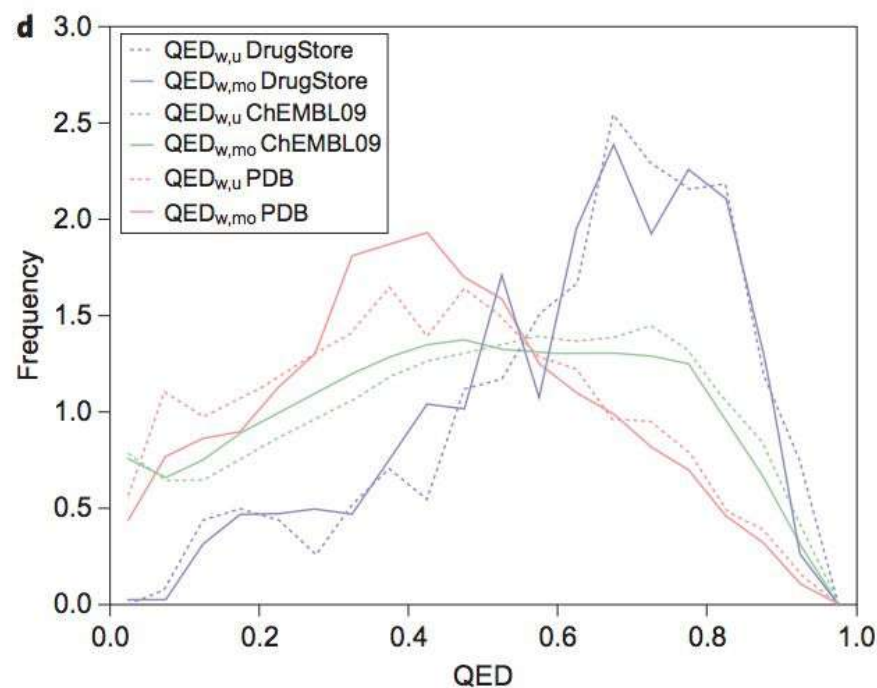
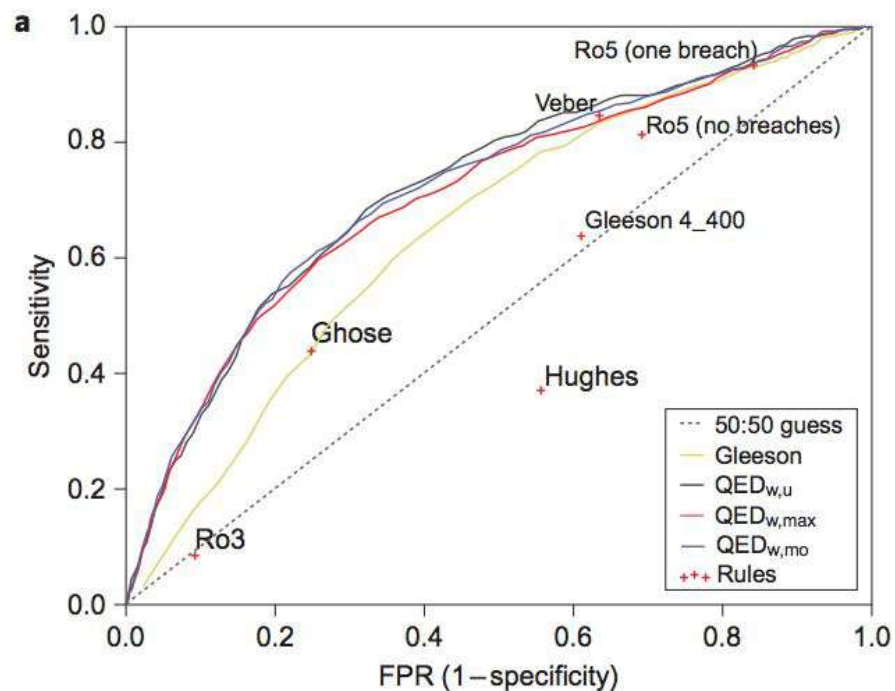
<https://www.nature.com/articles/srep46277/figures/1>

QED: Quantitative Estimation Druggability molecules

$$\text{QED}_w = \exp \left[\frac{W_{\text{MW}} \ln d_{\text{MW}} + W_{\text{ALOGP}} \ln d_{\text{ALOGP}} + W_{\text{HBA}} \ln d_{\text{HBA}} + W_{\text{HBD}} \ln d_{\text{HBD}} + W_{\text{PSA}} \ln d_{\text{PSA}} + W_{\text{ROTB}} \ln d_{\text{ROTB}} + W_{\text{AROM}} \ln d_{\text{AROM}} + W_{\text{ALERTS}} \ln d_{\text{ALERTS}}}{W_{\text{MW}} + W_{\text{ALOGP}} + W_{\text{HBA}} + W_{\text{HBD}} + W_{\text{PSA}} + W_{\text{ROTB}} + W_{\text{AROM}} + W_{\text{ALERTS}}} \right] \quad (4)$$

Quantifying the chemical beauty of drugs

QED: Quantitative Estimation Druggability molecules



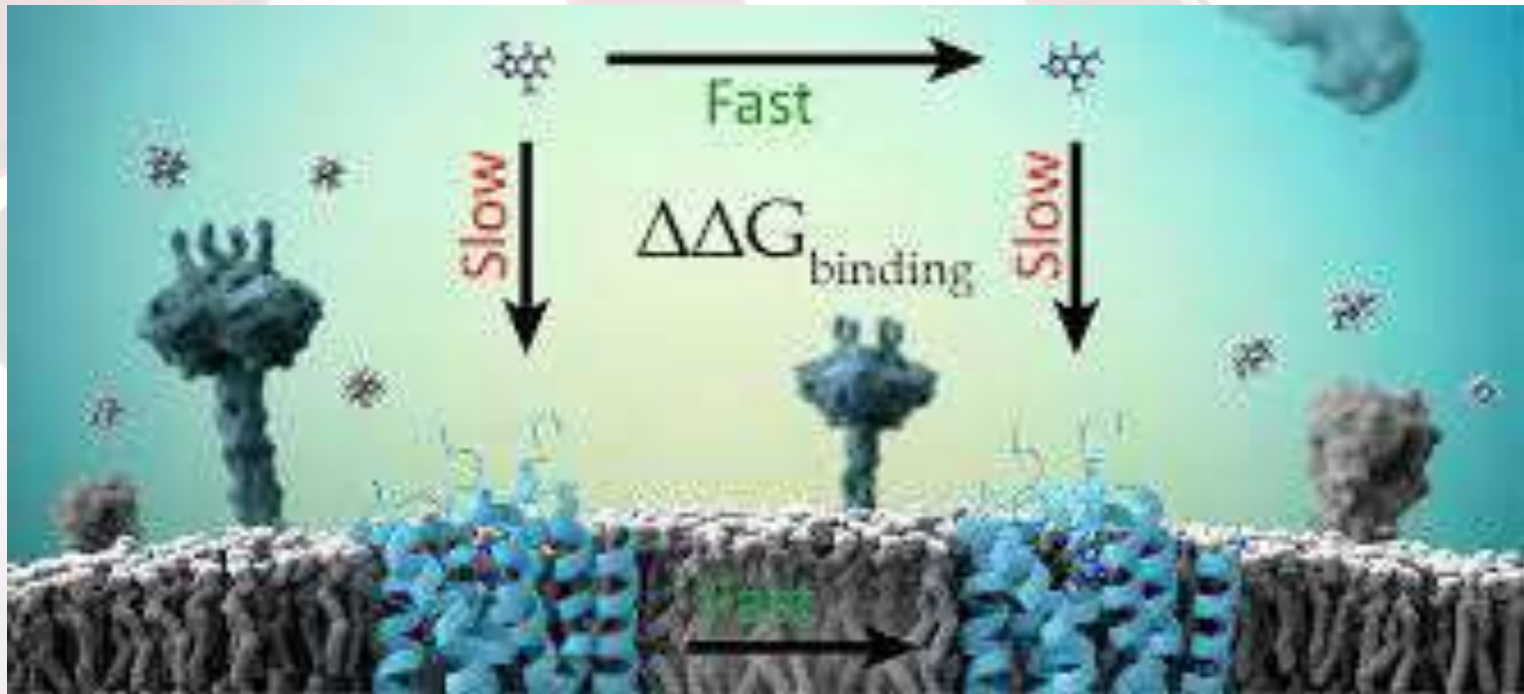
<https://www.nature.com/articles/srep46277/figures/1>

QED: Quantitative Estimation Druggability molecules

Table 2 | Top human targets* by three different ranking schemes.

Target (UniProt)	Mean QED	Target (UniProt)	Mean QED best cluster	Target (UniProt)	Proportion clusters with mean QED >0.796
1 Free fatty acid receptor 2 (O15552)	0.861	Neuropeptide Y receptor type 5 (Q15761)	0.935	Vesicular acetylcholine transporter (Q16572)	0.714
2 Sodium channel (Q9NY72, O60939, Q8IWT1, Q07699)	0.849	Serotonin transporter (P31645)	0.932	Phosphodiesterase 7A (Q13946)	0.667
3 Voltage-gated potassium channel (P15382, P51787)	0.835	Serotonin 1a (5-HT1a) receptor (P08908)	0.932	Melatonin receptor 1A (P48039)	0.5
4 Phosphodiesterase 9A (O76083)	0.820	Norepinephrine transporter (P23975)	0.932	Melatonin receptor 1B (P49286)	0.462
5 Aldo-keto-reductase family 1 member C3 (P42330)	0.812	Dopamine transporter (Q01959)	0.931	Norepinephrine transporter (P23975)	0.453
6 Cholinergic receptor, nicotinic, beta 1 (muscle) (Q8IZ46)	0.811	Histamine H1 receptor (P35367)	0.928	Histamine H4 receptor (Q9H3N8)	0.444
7 Sorbitol dehydrogenase (Q00796)	0.809	Dopamine D3 receptor (P35462)	0.927	Dopamine transporter (Q01959)	0.409
8 Sodium channel protein type IV alpha subunit (P35499)	0.809	Dopamine D4 receptor (P21917)	0.925	Serotonin 7 (5-HT7) receptor (P34969)	0.4

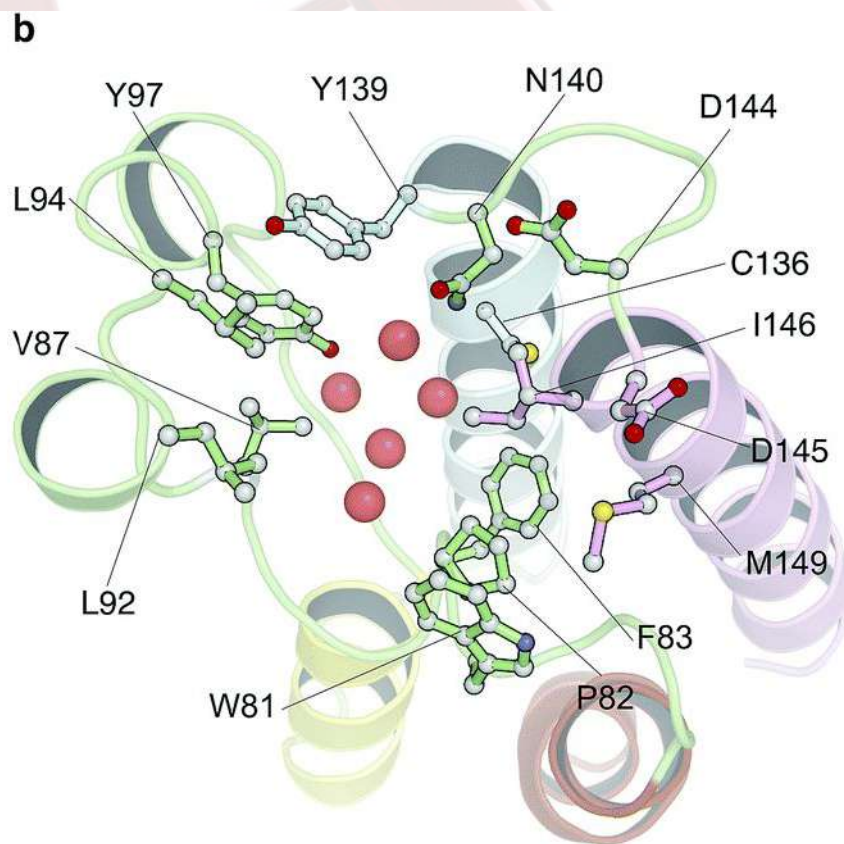
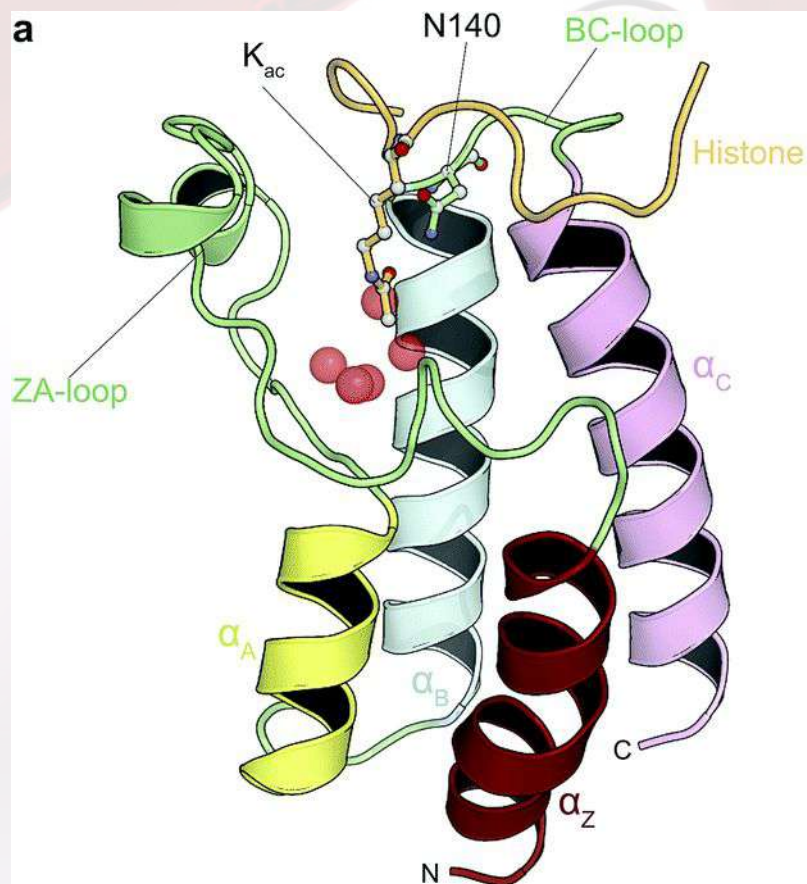
<https://www.nature.com/articles/srep46277/figures/1>



Energía de la Interacción con Ligandos

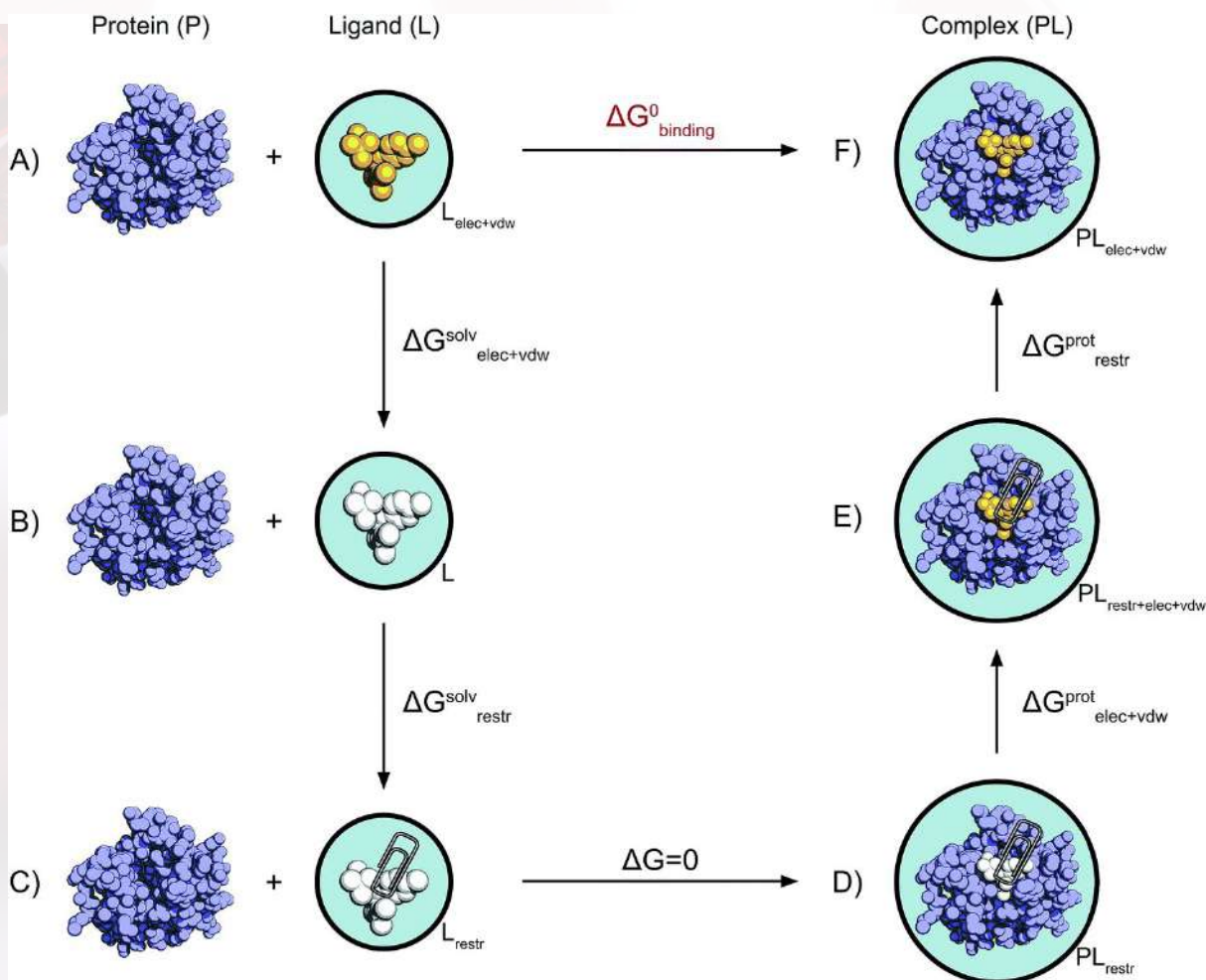
Afinidad de Ligandos

Unión de ligandos con BDR4

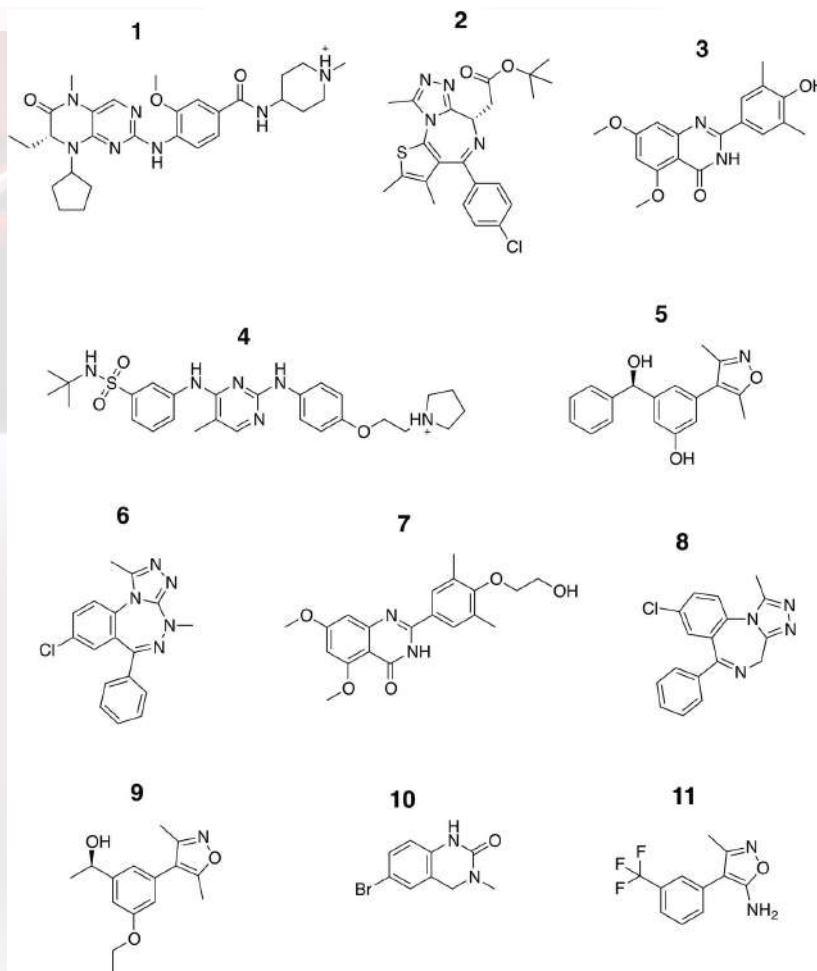


Aldeghi, M., Heifetz, A., Bodkin, M. J., Knapp, S., & Biggin, P. C. (2016). Accurate calculation of the absolute free energy of binding for drug molecules. *Chemical Science*, 7(1), 207–218.

Cambios de Energía Libre



Cambios de Energía Libre



BI-2536

JQ1

quinazolinone

TG-101348

TG-3,5-dimethylisoxazol

benzo-triazepine (BzT-7)

quinazolinona (RVX-208)

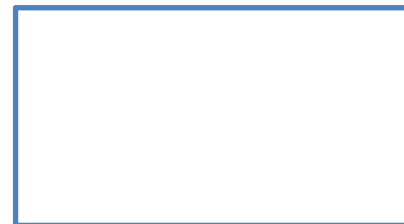
Alprozalam

3,5-dimethylisoxazol

quinazolinona

Aldeghi, M., Heifetz, A., Bodkin, M. J., Knapp, S., & Biggin, P. C. (2016). *Chemical Science*, 7(1), 207–218.

Cambios de Energía Libre



Ligand	K_D (nM)	ΔG^0 (kJ/mol)	kcal/mol	$\Delta\Delta G^0$ (kJ/mol)
X	1000	-34.2	-8.17	5.7
Y	100	-39.9	-9.53	0
W	10	-45.6	-10.89	-5.7
Z	1	-51.3	-12.25	-11.4

Cambios de Energía Libre (kcal/mol)

Cpd	ΔG_{calc}	ΔG_{exp}	$\Delta G_{\text{calc}} - \Delta G_{\text{exp}}$	PDB	Exp method	Reference
1	-10.4 ± 0.6	$-9.8 \pm 0.1^{\alpha}$	-0.6 ± 0.6	4OGI	ITC	68
2	-9.5 ± 0.4	$-9.6 \pm 0.1^{\alpha}$	$+0.2 \pm 0.4$	3MXF	ITC	69
3	-9.2 ± 0.5	$-9.0 \pm 0.1^{\alpha}$	-0.2 ± 0.5	4MR3	ITC	70
4	-9.4 ± 0.8	$-8.9 \pm 0.1^{\alpha}$	-0.4 ± 0.8	4OGJ	ITC	68
5	-8.6 ± 0.3	$-8.8 \pm 0.1^{\beta}$	$+0.2 \pm 0.3$	4J0R	SPR	71
6	-9.9 ± 0.8	$-8.2 \pm 0.1^{\alpha}$	-1.7 ± 0.8	3U5L	ITC	72
7	-5.9 ± 0.5	$-7.8 \pm 0.1^{\alpha}$	$+2.0 \pm 0.5$	4MR4	ITC	70
8	-7.8 ± 0.3	$-7.4 \pm 0.1^{\alpha}$	-0.4 ± 0.3	3U5J	ITC	72
9	-7.7 ± 0.4	$-7.3 \pm 0.0^{\beta}$	-0.4 ± 0.4	3SVG	AlphaScreen	71
10	-5.9 ± 0.2	$-6.3 \pm 0.1^{\beta}$	$+0.4 \pm 0.3$	4HBV	AlphaScreen	73
11	-5.4 ± 0.2	-5.6^{γ}	$+0.1 \pm 0.2$	Model	AlphaScreen	74

BI-2536

JQ1

quinazolinone

TG-101348

TG-3,5-dimethylisoxazol

benzo-triazepine (BzT-7)

quinazolinona (RVX-208)

Alprozalam

3,5-dimethylisoxazol

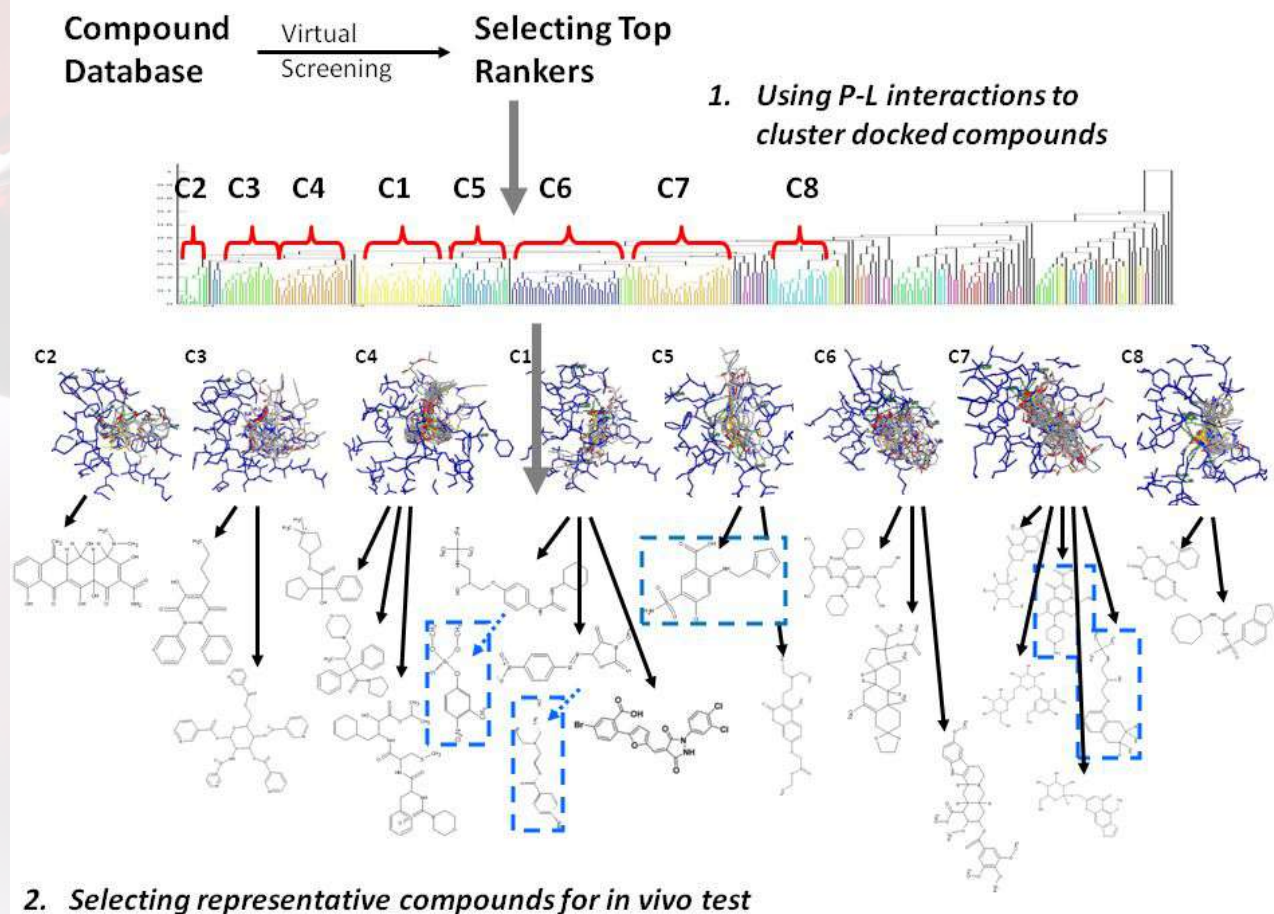
quinazolinona

Aldeghi, M., Heifetz, A., Bodkin, M. J., Knapp, S., & Biggin, P. C. (2016). *Chemical Science*, 7(1), 207-218.

Cambios de Energía Libre

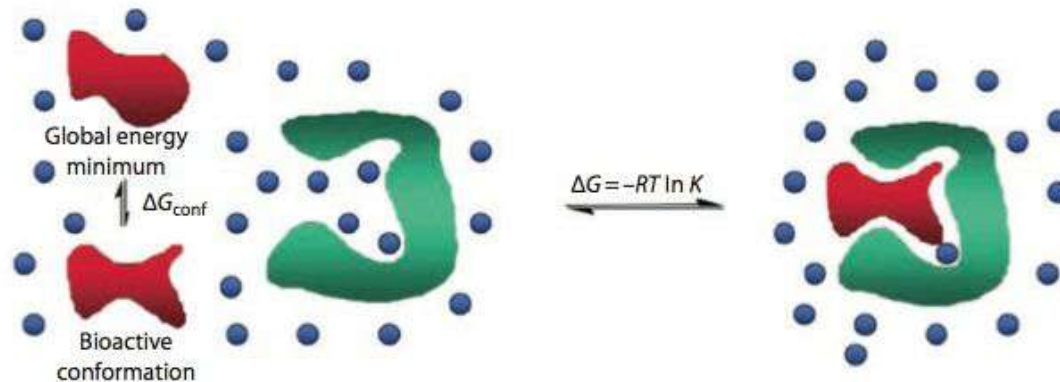
Compound	ΔG_{calc}	ΔG_{exp}	$\Delta G_{\text{calc}} - \Delta G_{\text{exp}}$	X-ray pose	RMSD (Å)	Docking ΔG
1	-10.9 ± 0.8	$-9.8 \pm 0.1^{\alpha}$	-1.1 ± 0.8	Yes	3.2	-2.7
2	-10.1 ± 0.4	$-9.6 \pm 0.1^{\alpha}$	-0.5 ± 0.4	Yes	1.9	-4.7
3	-10.8 ± 0.2	$-9.0 \pm 0.1^{\alpha}$	-1.8 ± 0.2	Yes	2.0	-4.9
4	-9.0 ± 0.8	$-8.9 \pm 0.1^{\alpha}$	-0.0 ± 0.8	Yes	1.8	-3.4
5	-8.3 ± 0.2	$-8.8 \pm 0.1^{\beta}$	$+0.5 \pm 0.2$	Yes	1.2	-4.2
6	-10.6 ± 0.3	$-8.2 \pm 0.1^{\alpha}$	-2.4 ± 0.3	No	5.0	-4.6
7	-6.6 ± 0.3	$-7.8 \pm 0.1^{\alpha}$	$+1.2 \pm 0.3$	Yes	2.2	-5.2
8	-10.2 ± 0.2	$-7.4 \pm 0.1^{\alpha}$	-2.8 ± 0.2	Yes	0.8	-4.2
9	-7.7 ± 0.1	$-7.3 \pm 0.0^{\beta}$	-0.5 ± 0.1	Yes	1.8	-4.2
10	-6.2 ± 0.1	$-6.3 \pm 0.1^{\beta}$	$+0.1 \pm 0.2$	Yes	0.7	-3.2
11	-5.4 ± 0.1	-5.6^{γ}	$+0.2 \pm 0.1$	n.a.	n.a.	-4.8

Docking Molecular



Afinidad del ligando

- La afinidad de un ligando está determinada por la diferencia de energía libre: ΔG .
- La afinidad es medida en diseño de fármacos como una constante de inhibición (K_i) o por un valor de concentración inhibitoria que desplaza al 50% del ligando unido (IC_{50}).
- Los valores se encuentran generalmente en el orden de μM o nM , lo que produce valores de ΔG cada vez más negativos.



$$\Delta G = RT \ln K_i$$

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

K_i de 1 nM produce ΔG -53.4 kJ/mol

K_i de 1 μM produce ΔG -35.6 kJ/mol

ΔG de 5.9 kJ/mol altera K_i por un factor de 10

310K

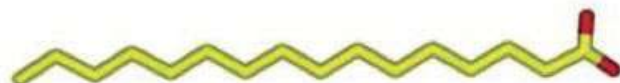
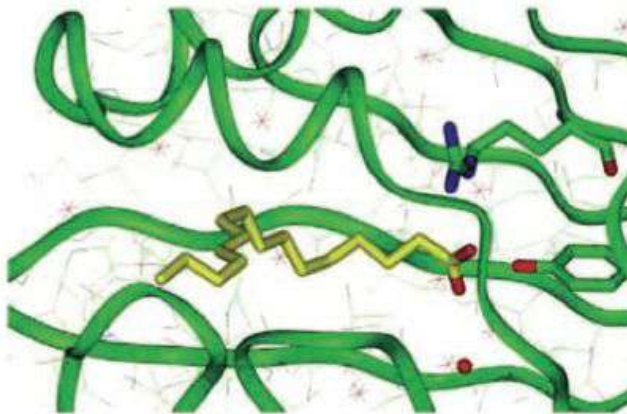
Componentes de ΔG

$$\Delta G = \Delta G_{\text{transl+rot}} + \Delta G_{\text{conf}} + \Delta G_{\text{polar}} + \Delta G_{\text{hidrofob}} + \Delta G_{\text{vdW}}$$

- **$\Delta G_{\text{transl+rot}}$: “La inmovilización global de las moléculas”.** Cambio de energía utilizado al perder los grados de libertad del ligando, no depende de la naturaleza del ligando. Es de 12kJ/mol para un complejo débil hasta 45kJ/mol para un complejo fuerte.
- **ΔG_{conf} : “Cambios conformacionales del ligando y el receptor”.** Cambio de energía utilizado al perder la flexibilidad el ligando o la proteína. Se estima de 1–6kJ/mol.
- **ΔG_{polar} : “Interacciones electrostáticas y puente hidrógenos”.** Cambio de energía debido a interacciones entre grupos funcionales polares. Frecuentemente también se observan interacciones mediadas por moléculas de agua.
- **$\Delta G_{\text{hidrofob}}$: “El efecto hidrofóbico”.** Es la energía de transferencia una molécula o grupo no polar desde el agua a una fase orgánica. La energía depende del área de la superficie hidrofóbica y puede ir desde 0.1 hasta 0.24kJ/Å² mol.
- **ΔG_{vdW} : “Interacciones atractivas y repulsivas de vdW”.** Es la energía de interacción no polar dependiente de la distancia de interacción, donde a corta distancia es repulsiva por el solapamiento de las nubes electrónicas y es responsable de la baja afinidad de moléculas con solapamientos de los radios de vdW.

ΔG_{conf}

Cambios en el ligando



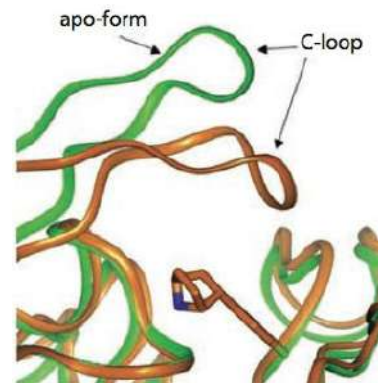
Más baja E^a en solución



Bioactiva conf. +10.5kJ/mol

1LIE

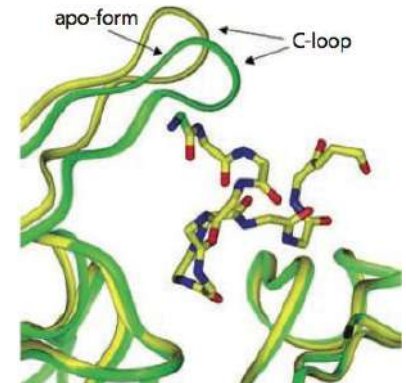
Cambios en la proteína



Epibatidina
enlazada a
AChBP.

2BYQ

2BYN



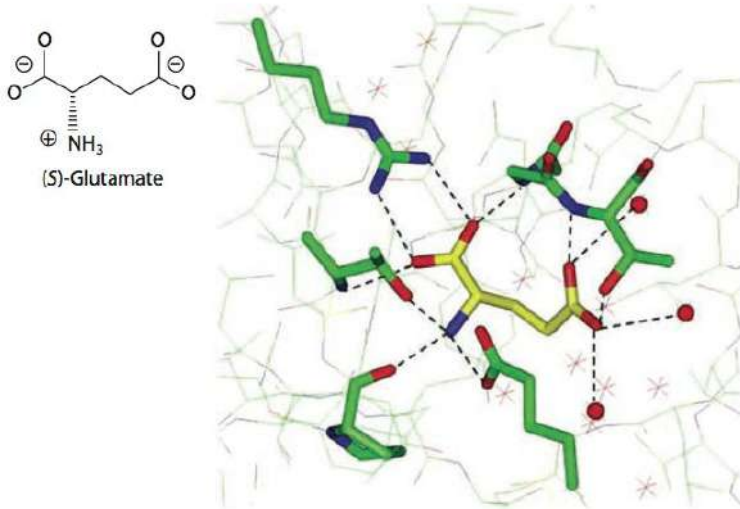
α -conotoxina
ImI
enlazada a
AChBP.

2BYP

2BYN

ΔG_{polar}

Puentes Hidrógeno



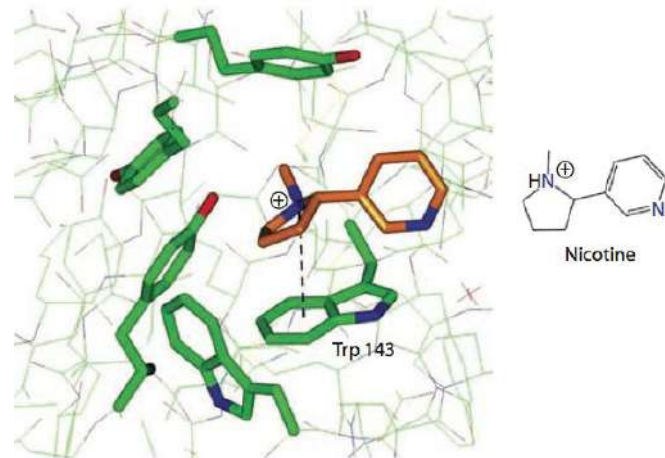
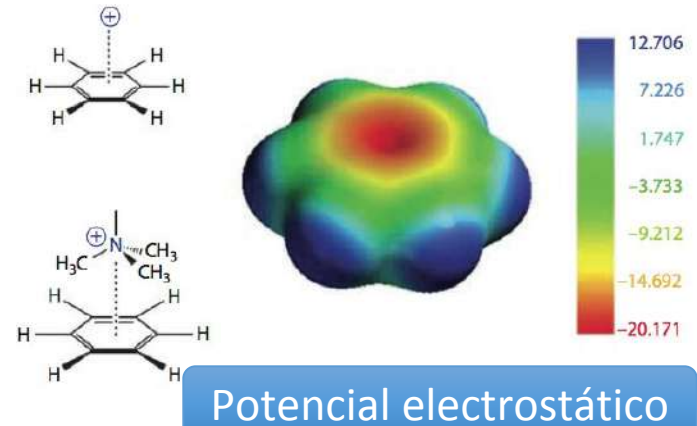
(S)-Glutamato
unido a
iGluR.

1FTJ

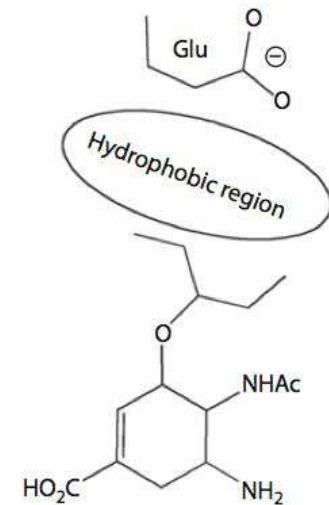
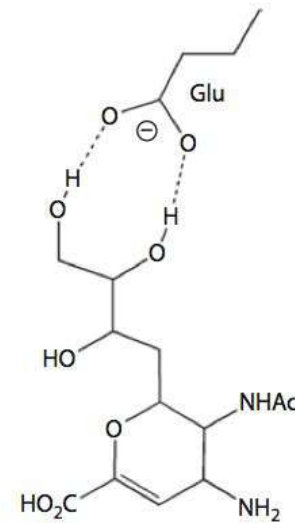
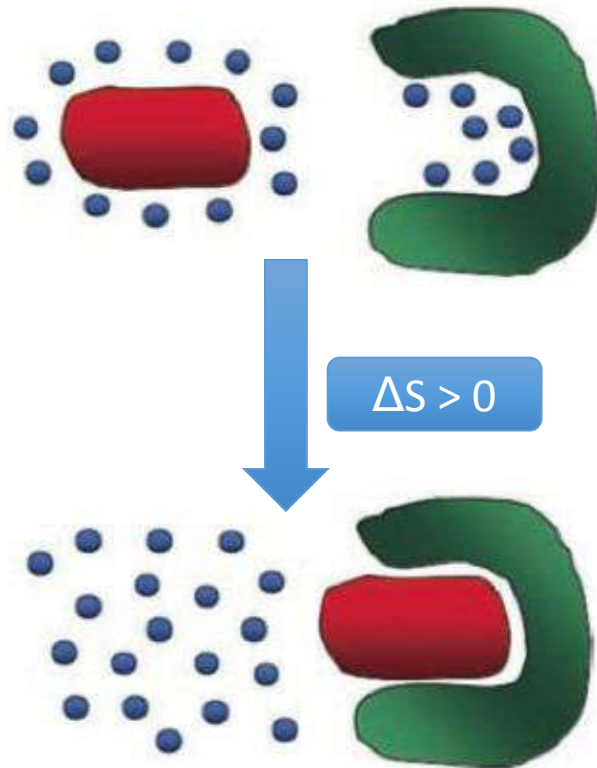
1UW6

Nicotina
unido a
AChBP.

Pi-Pi /Cación-Pi

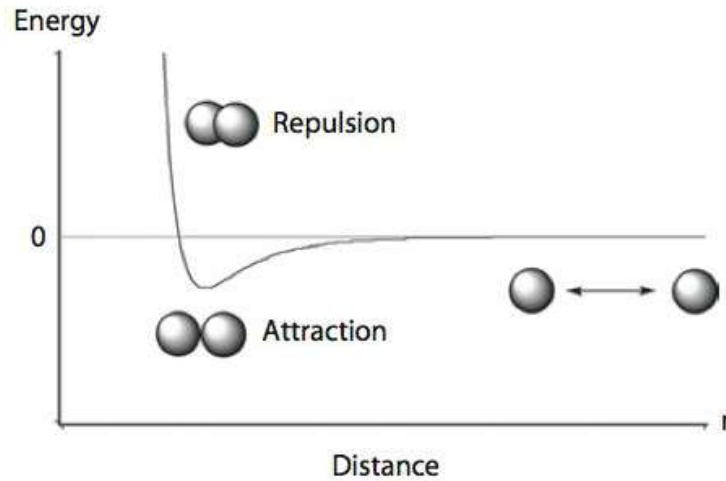


$\Delta G_{\text{hidrofob}}$

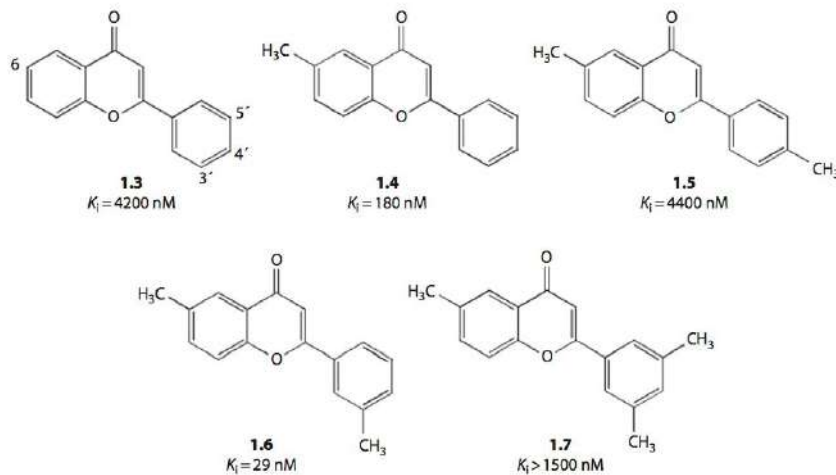


Inhibidores de la
neuraminidasa

ΔG_{vdW}



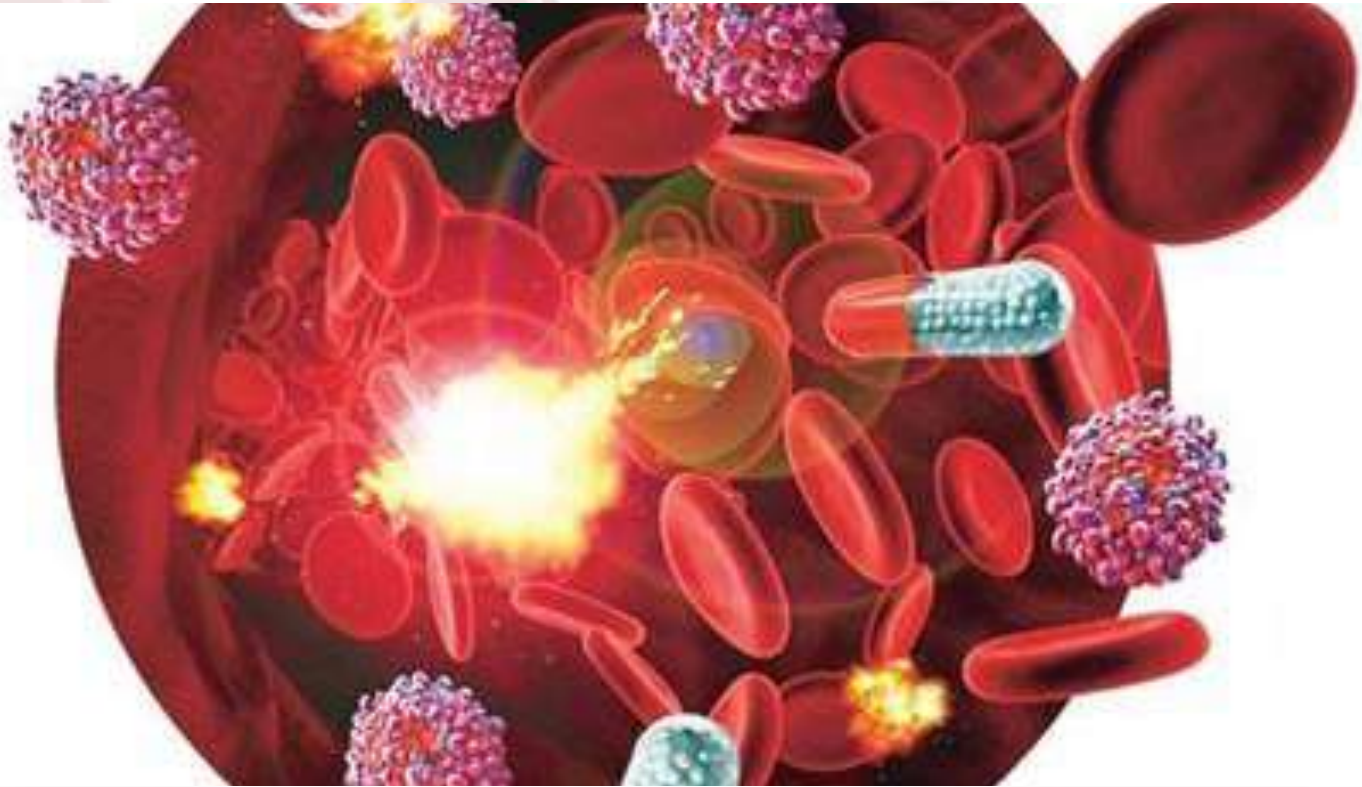
Curva de E^a de vdW



Unión de flavonas al
Receptor de GABA

Conclusiones

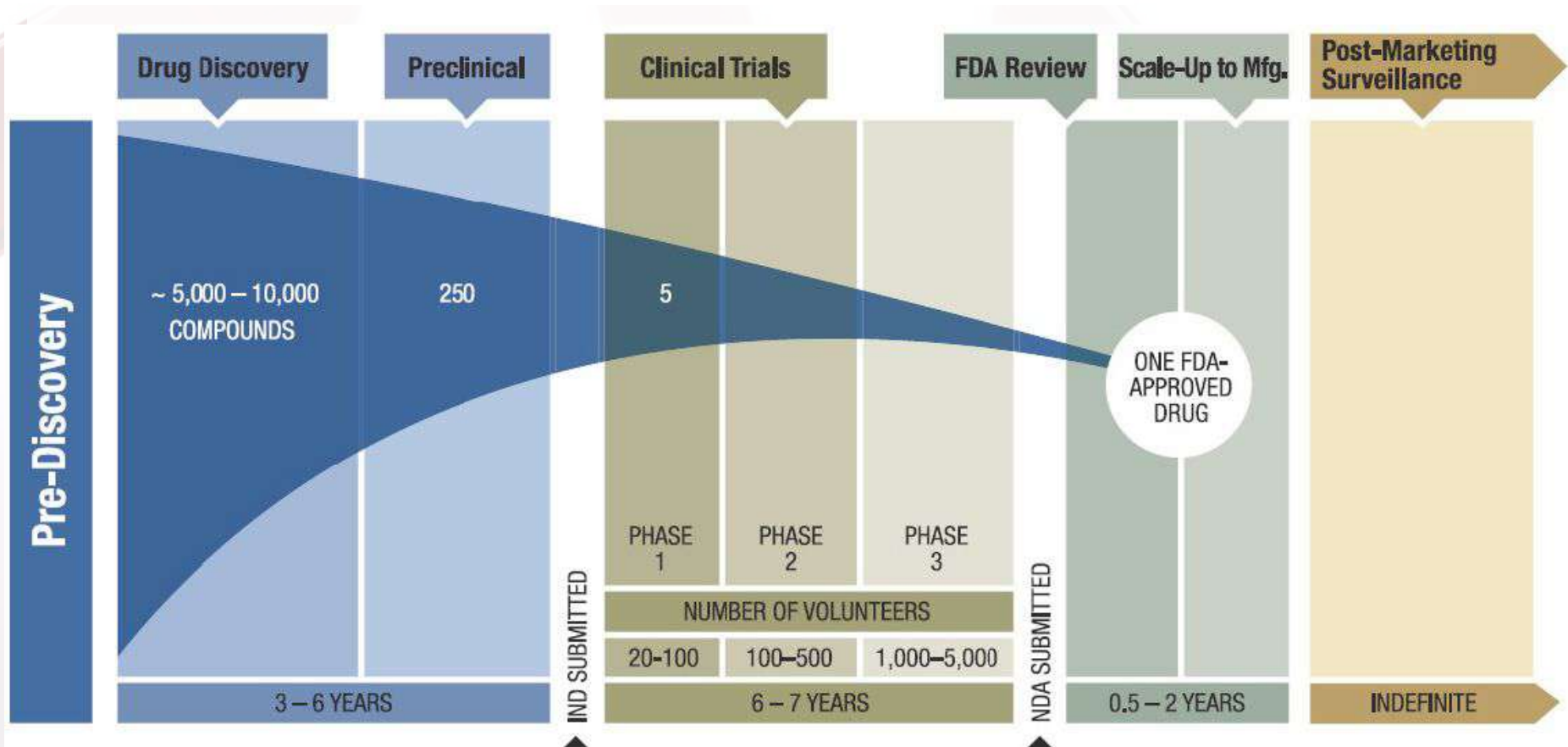
- Todos los fármacos deben interactuar con su blanco terapéutico, proceso que estabilizan sus complejos involucrando fuerzas de interacción molecular.
- Los cambios de energía libre deben ser negativos para favorecer la estabilización de complejos.
- La estabilización de las interacciones tiene una directa relación con las concentraciones del fármaco necesarias para generar una respuesta farmacológica.
- El sistema es dinámico y flexible por lo que la determinación de las energías de interacción requiere de la incorporación de estos parámetros.
- Actualmente, existen funciones matemáticas con las cuales se pueden calcular las componentes de energías y evaluar su contribución a la estabilización de un complejo.



Caso de Estudio

Afinidad de Ligandos

Fases de Diseño de Fármacos



Sigal presentation, December 12, 2016; [AACR, 2011](#).

Fármacos Diseñados

Tabla 2. Ejemplos recientes de fármacos desarrollados con la ayuda de métodos computacionales

Fármaco	Aplicación	Técnica computacional	Farmacéutica
Crizotinib	Agente antineoplásico (cáncer de pulmón)	Acoplamiento molecular	Pfizer
Rilpivirina	Antiviral (infección por el VIH)	Acoplamiento molecular	Janssen Pharmaceuticals
Zelboraf	Agente antineoplásico (melanoma)	Acoplamiento molecular y análisis de subestructuras	Roche
Boceprevir	Antiviral (infección por el virus de la hepatitis C, VHC)	Acoplamiento molecular	Merck & Co

La Historia del Neuroblastoma



En 2008, se identificaron una serie de mutaciones primarias en ALK de longitud completa en el neuroblastoma, la neoplasia maligna pediátrica.

Ahora está claro que tres residuos "hotspot" en el dominio de la quinasa representan el 85% de las mutaciones (R1275, F1174 y F1245), cada una de las cuales hace que ALK se active constitutivamente.

Mediadores importantes de la proliferación celular y la supervivencia activadas siguientes fosforilación ALK son el / Raf / MEK / ERK1 / 2/5 vía Ras, la JAK / STAT (Janus activa transductor quinasa / señal y activador de la transcripción) vía, la PI3K (fosfatidilinositol 3- quinasa) / ruta Akt, y la vía PLC (fosfolipasa C) - γ

Tras el reconocimiento de que los niños con aberraciones de ALK y MYCN tienen un resultado especialmente malo, se convirtió en una prioridad para comprender la naturaleza de la sinergia entre estas dos oncoproteínas.

La Historia del Crizotinib



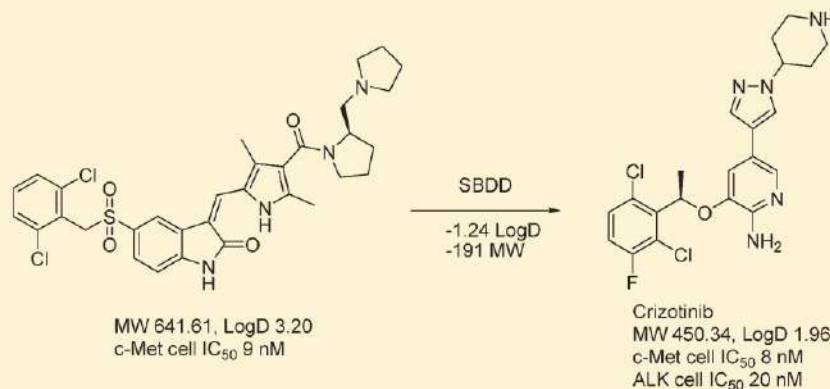
La quinasa de linfoma anaplásico (ALK) como un posible objetivo farmacológico en el cáncer 15 años antes, pero ALK fue reconocido por primera vez como un objetivo molecular en NSCLC solo en 2007, cuando el Dr. Mano y sus colegas informaron que el 6,7% de los pacientes japoneses con NSCLC albergan una fusión de EML4 con el dominio de quinasa intracelular de ALK.

Basado en estudios in vitro con un inhibidor de ALK WHI-P154 y un modelo de línea celular Ba/F3, el equipo del Dr. Mano sugirió que ALK podría representar un objetivo terapéutico en pacientes con NSCLC ALK positivo.

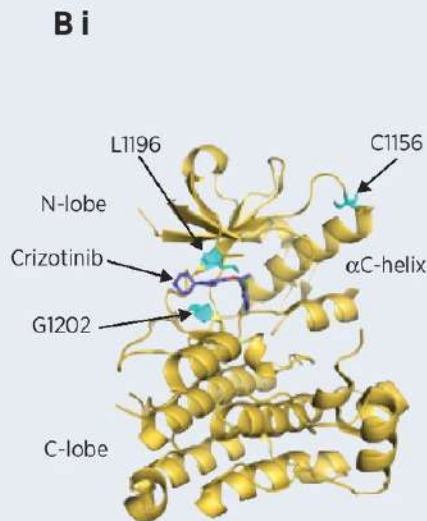
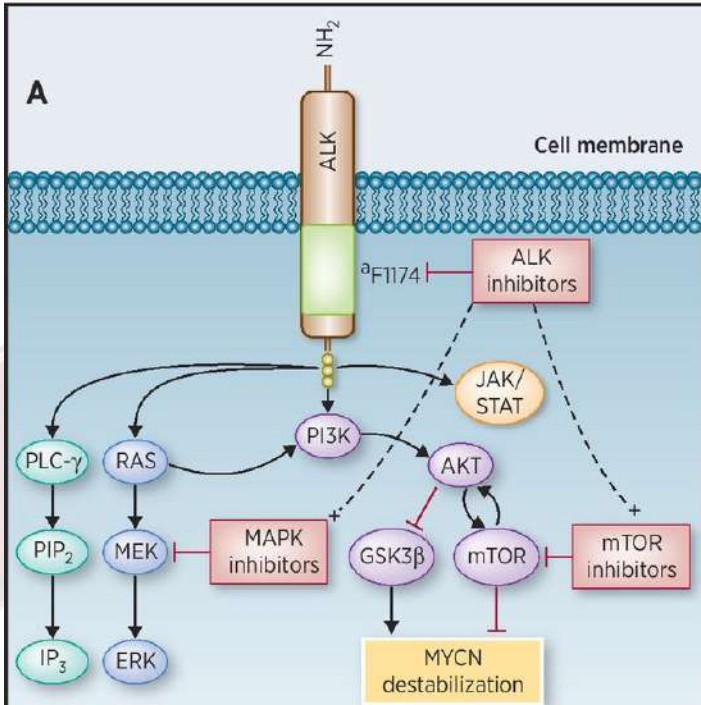
Un año antes del descubrimiento del Dr. Mano, PF-02341066, ahora conocido como crizotinib, un inhibidor de molécula pequeña de ALK acababa de entrar en ensayos clínicos. Se había desarrollado para apuntar a c-MET, pero también se sabía que inhibe a ALK.

Desarrollo de Crizotinib

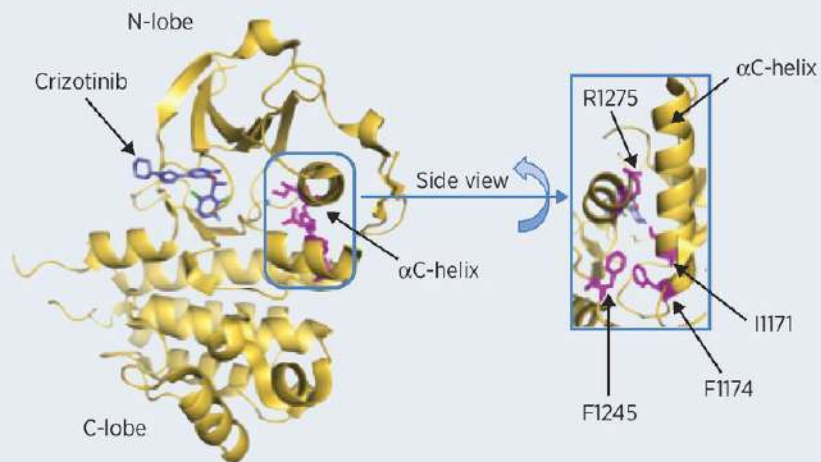
ABSTRACT: Because of the critical roles of aberrant signaling in cancer, both c-MET and ALK receptor tyrosine kinases are attractive oncology targets for therapeutic intervention. The cocrystal structure of **3** (PHA-665752), bound to c-MET kinase domain, revealed a novel ATP site environment, which served as the target to guide parallel, multiattribute drug design. A novel 2-amino-5-aryl-3-benzoyloxy pyridine series was created to more effectively make the key interactions achieved with **3**. In the novel series, the 2-aminopyridine core allowed a 3-benzoyloxy group to reach into the same pocket as the 2,6-dichlorophenyl group of **3** via a more direct vector and thus with a better ligand efficiency (LE). Further optimization of the lead series generated the clinical candidate crizotinib (PF-02341066), which demonstrated potent in vitro and in vivo c-MET kinase and ALK inhibition, effective tumor growth inhibition, and good pharmaceutical properties.



Cui, J. J., Tran-Dubé, M., Shen, H., Nambu, M., Kung, P.-P., Pairish, M., et al. (2011). Structure based drug design of crizotinib (PF-02341066), a potent and selective dual inhibitor of mesenchymal-epithelial transition factor (c-MET) kinase and anaplastic lymphoma kinase (ALK). *Journal of Medicinal Chemistry*, 54(18), 6342–6363.

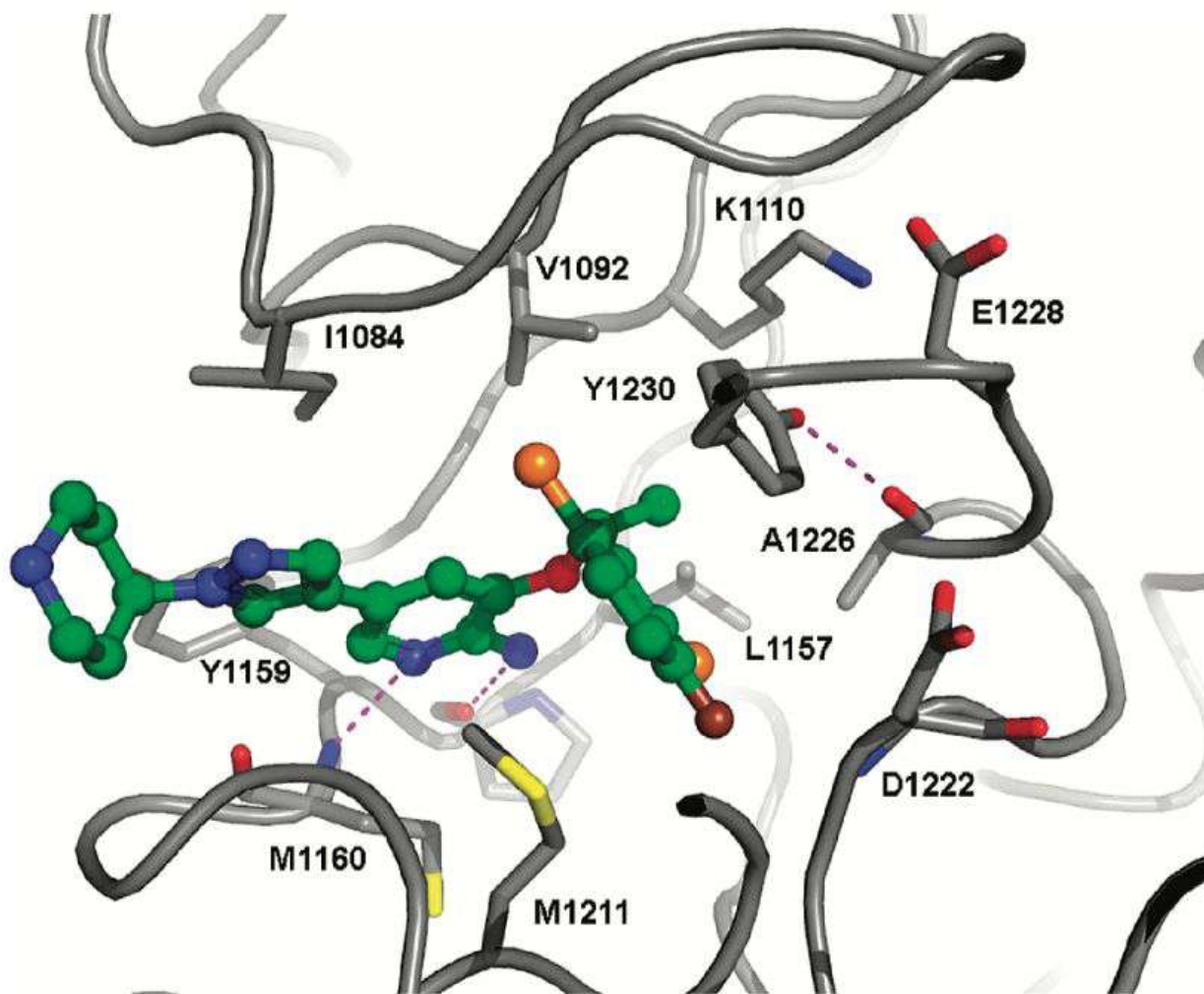


Bii



© 2015 American Association for Cancer Research

Mecanismo del Crizotinib



2WGJ

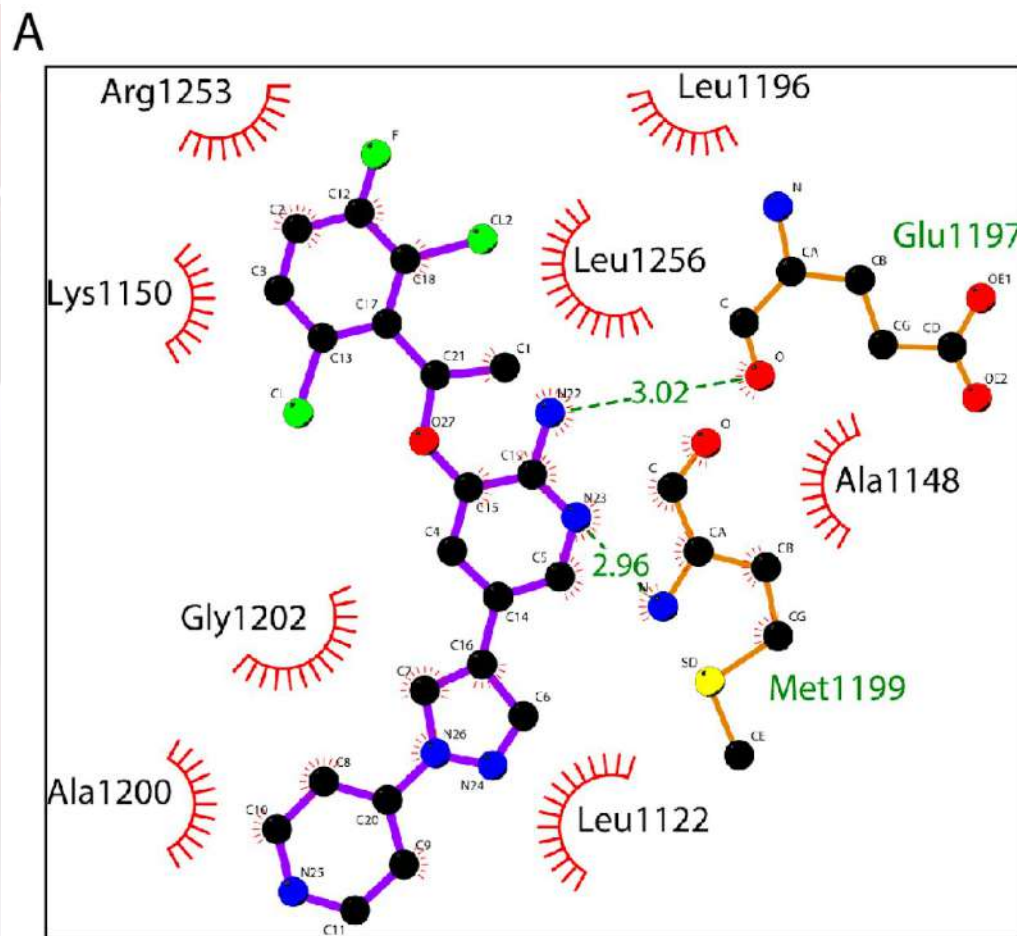
2WKM

Figure 9. Cocrystal structure of crizotinib bound to c-MET.

Cui, J. J., Tran-Dubé, M., Shen, H., Nambu, M., Kung, P.-P., Pairish, M., et al. (2011). Structure based drug design of crizotinib (PF-02341066), a potent and selective dual inhibitor of mesenchymal-epithelial transition factor (c-MET) kinase and anaplastic lymphoma kinase (ALK). *Journal of Medicinal Chemistry*, 54(18), 6342–6363.

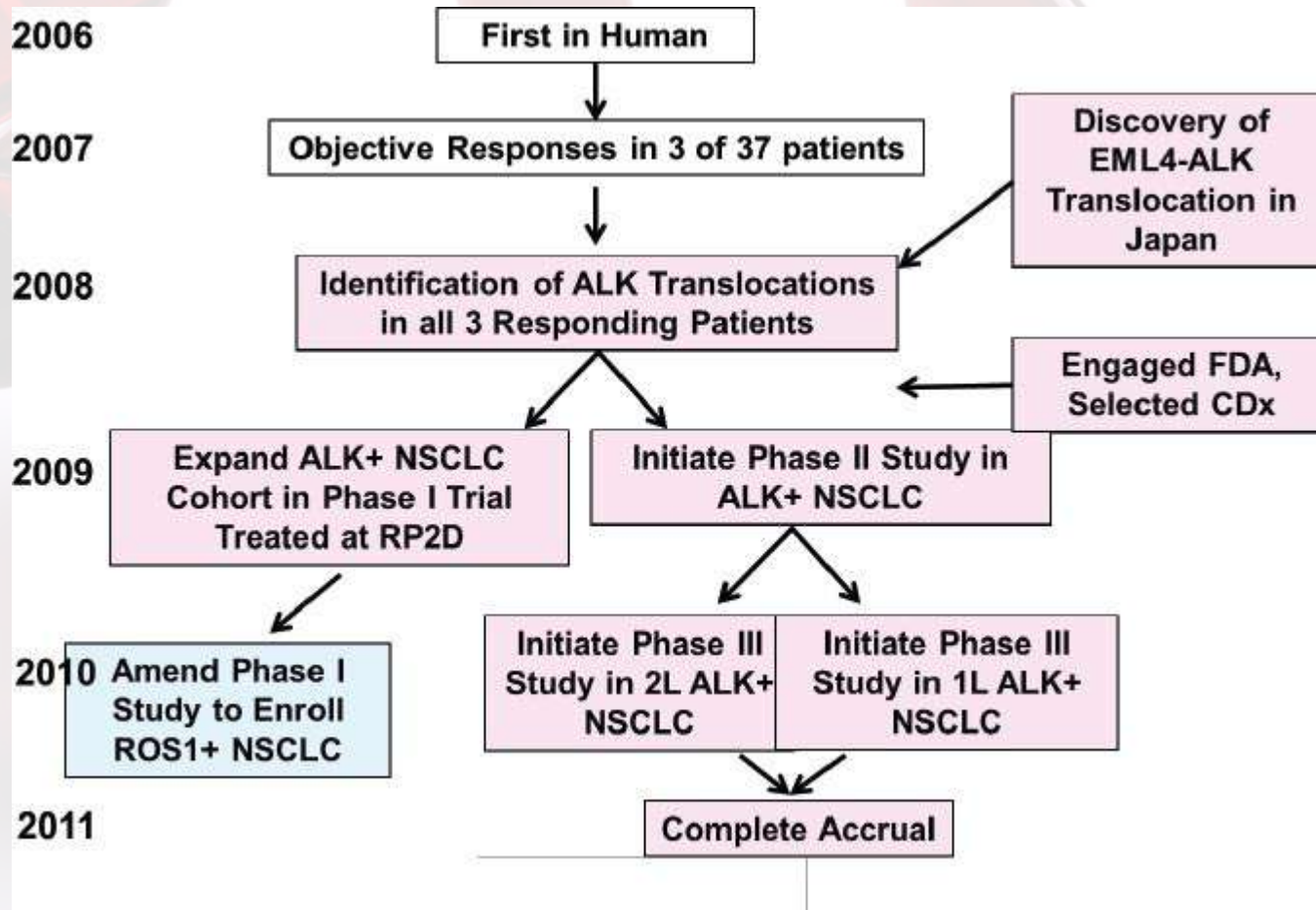
Interacciones Intermoleculares

LigPlot+

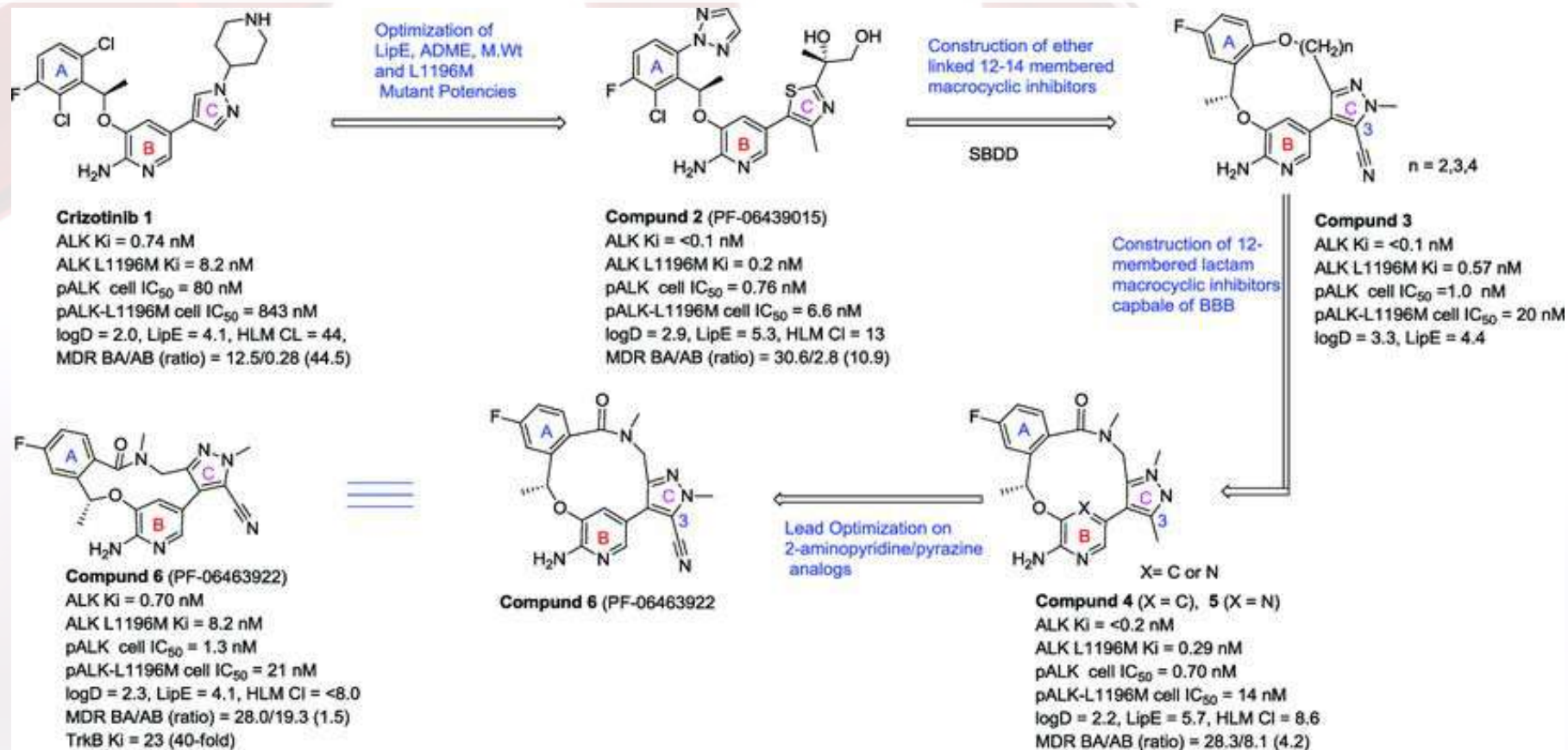


Li, J., Sun, R., Wu, Y., Song, M., Li, J., Yang, Q., et al. (2017). L1198F Mutation Resensitizes Crizotinib to ALK by Altering the Conformation of Inhibitor and ATP Binding Sites. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(3), 482.

Fases Cínicas de Crizotinib



Lorlatinib



First macrocyclic 3rd-generation ALK inhibitor for treatment of ALK/ROS1 cancer:
 Clinical and designing strategy update of lorlatinib

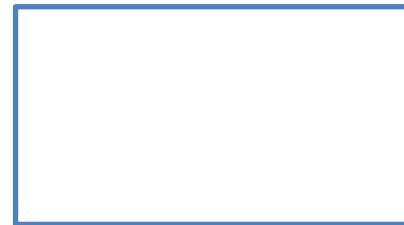
Mejora en el modelo de pruebas

un modelo transgénico de neuroblastoma en el que la tirosina hidroxilasa impulsa la expresión de ALK F1174L y MYCN (Th-ALKF1174L / MYCN), que sirve como una plataforma invaluable para la evaluación de nuevas terapias.

En este modelo transgénico, la expresión de ALK F1174L regula por incremento la transcripción de Mycn nativa, lo que aumenta aún más la relevancia del modelo para casos clínicos de neuroblastoma.

Los modelos transgénicos son superiores a los modelos de xenoinjertos humanos para el modelado farmacocinético y farmacodinámico de la traducción debido al inicio espontáneo del tumor en un animal inmunológicamente competente, lo que permite el estudio de un microambiente tumoral comparable a la enfermedad humana equivalente.

De hecho, a través de Th-ALKF1174L / MYCN, pudimos predecir que los neuroblastomas que albergaban ALK F1174L no responderían al tratamiento con crizotinib en la clínica.



Blancos Terapéuticos

- ¿Cuál es la relevancia de la determinación de las estructuras tridimensionales de proteínas para el diseño de fármacos?
- ¿Cuál es la ventaja con respecto al blanco terapéutico que se obtiene al dirigir inhibidores de la ALK en este tipo de neuroblastoma?
- ¿Cómo influyen los cambios conformacionales en la afinidad de ligandos?

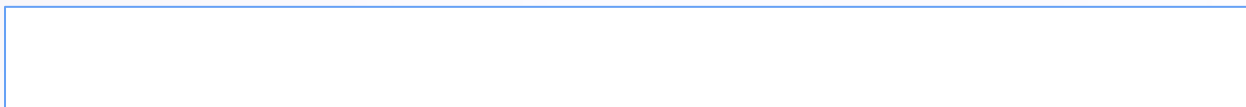
Ligandos

- ¿Por qué es útil utilizar aproximaciones computacionales para identificar nuevos compuestos?
- ¿Por qué las reglas de Lipinski funcionan?
- ¿Cuál es la principal ventaja de utilizar QED frente a las reglas de Lipinski?
- ¿Qué tipo de energía es la responsable de la unión de los fármacos?

Energía

- ¿Cuáles son los componentes de esta energía?
- ¿Por qué es tan complicado el cálculo exacto de la energía?
- ¿Qué sucede si un candidato a fármaco posee una energía de unión menor a -60 kJ/mol?
- ¿Qué sucede si un candidato a fármaco posee una energía de unión mayor a -30 kJ/mol?

Diseño de fármacos



Preguntas Blancos Terapéuticos

¿Cuál es la relevancia de la determinación de las estructuras tridimensionales de proteínas para el diseño de fármacos?

R: Todas las proteínas son potenciales blancos terapéuticos, por lo que conocer sus estructuras tridimensionales nos permite definir bolsillo y canales con los cuales interactúan las moléculas pequeñas, las que modulan la función dependiendo de esta conformación atómica su especificidad (la capacidad de unirse con algunas moléculas solamente) y la afinidad (la energía de unión). Esto nos habilita a identificar nuevos blancos terapéuticos y su aplicación, siendo de igual relevancia el conocimiento del funcionamiento normal de la vía a modular.

¿Cuál es la ventaja con respecto al blanco terapéutico que se obtiene al dirigir inhibidores de la ALK en este tipo de neuroblastoma?

R: La quinasa que se produce por la translocación de genes está constitutivamente activa por una mutación específica, lo que la diferencia de esta proteína en genes normales, por lo que el sitio de unión de ATP está alterado sólo en las células neoplásicas. Esto le confiere una mayor especificidad a los fármacos desarrollados.

¿Cómo influyen los cambios conformacionales en la afinidad de ligandos?

R: Las proteínas al sufrir cambios conformacionales exponen distintos residuos en las cavidades de interacción de las moléculas lo que altera las distancias de los átomos disponibles, la forma, las cargas y por lo tanto la afinidad de las moléculas. Por eso a veces se observan períodos refractarios a la unión de ligandos. A veces existen mutaciones en las proteínas que hacen que la afinidad se reduzca no produciendo efecto.

Preguntas Ligandos

¿Por qué es útil utilizar aproximaciones computacionales para identificar nuevos compuestos?

R: 1) Generalmente se deben ensayar decenas de moléculas, mientras cada ensayo que se realiza para probar afinidad o efecto de una molécula es costoso en tiempo y dinero, 2) Existe un amplio universo de moléculas 10^9 con probabilidad de ser un fármaco, por lo que se debe explorar la mayor variabilidad de candidatos con un mayor potencial. Las aproximaciones computacionales reducen el número de ensayo y sus costo, mientras cada vez son más precisas.

¿Por qué las reglas de Lipinski funcionan?

R: Las reglas de Lipinski funcionan por qué están calculadas desde descriptores de moléculas que ya son fármacos, es una forma fácil y rápida de seleccionar un buen grupo de moléculas para un ensayo preliminar. No obstante, es posible que se obtengan muchos falsos positivos y algunos ligandos no cumplan estas reglas. Esto se debe principalmente debido a que los átomos de los ligandos no sólo interactúan con el receptor, también poseen funciones de geometría general y de flexibilidad conformacional del ligando, hay ligandos que tienen hasta más de 100 conformaciones.

¿Cuál es la principal ventaja de utilizar QED frente a las reglas de Lipinski?

R: La principal ventaja que es una estimación de la drogabilidad en una escala continua, lo que nos permite realizar además de la selección de un grupo generar un ranking dentro de este.

Preguntas Energía

¿Qué tipo de energía es la responsable de la unión de los fármacos?

R: Es la energía libre de unión o delta G. Mientras más negativa, más fuerte es la unión. Los fármacos y K_i de 1 nM produce ΔG -53.4 kJ/mol (-12.7 kcal/mol), K_i de 1 μ M produce ΔG -35.6 kJ/mol (-8.5 kcal/mol).

¿Cuáles son los componentes de esta energía?

R: $\Delta G = \Delta G_{\text{transl+rot}} + \Delta G_{\text{conf}} + \Delta G_{\text{polar}} + \Delta G_{\text{hidrofob}} + \Delta G_{\text{vdW}}$

¿Porqué es tan complicado el cálculo exacto de la energía?

R: Por qué está energía es dependiente de las distancia y de las características de los átomos del ligando y el receptor, por lo que cambios aún muy pequeños en estos parámetros, pueden generar grandes variaciones de energía, para diseñar fármacos se necesita un precisión de 0.5 kJ/mol.

¿Qué sucede si un candidato a fármaco posee una energía de unión menor a -60 kJ/mol?

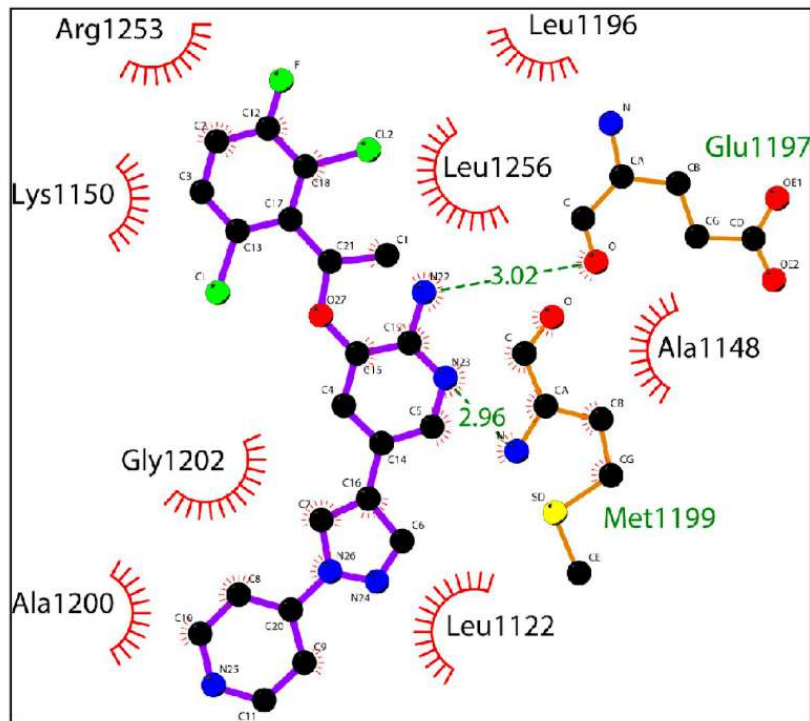
R: Es muy complejo administrar sus dosis, y su tiempo de interacción, lo más probable es que aumente mucho su toxicidad y su rango terapéutico sea muy estrecho.

¿Qué sucede si un candidato a fármaco posee una energía de unión mayor a -30 kJ/mol?

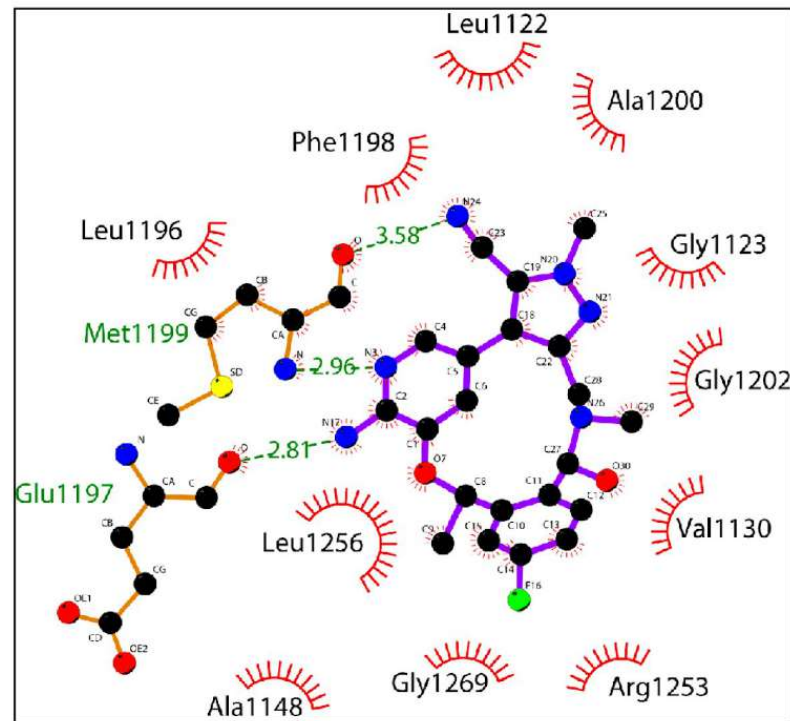
R: Se necesitaría consumir mucho fármacos por lo que la cantidad de cada dosis sería muy complejo de absorber. Además, como posee una unión muy débil puede aumentar su inespecificidad y a la vez no alcanzar el mínimo efecto terapéutico..

Preguntas Energía

A



B



Preguntas de diseño de fármacos

¿Por qué se ha migrado desde el descubrimiento de fármacos al diseño de fármacos ?

R: Principalmente por el avance en la determinación de estructuras de proteínas, en su interacción con otras proteínas, en la comprensión de la dinámica molecular de los procesos y el desarrollo de nuevas áreas de investigación de biofísica de moléculas.

¿Con respecto a la resistencia desde microorganismos o células tumorales, que ventajas se observan al diseñar fármacos desde complejos con estructura 3D conocida?

R: Se puede modelar el efecto de la mutación en la afinidad y contrarrestar estos efectos por modificaciones en fragmentos del ligando "original", o utilizando sus características para seleccionar nuevos inhibidores.

¿Que factores externos al sistema podrían influir en la energía de interacción?

R: La temperatura, el pH, la osmolaridad, la presencia de sales, la interacción con otras proteínas. Además mutaciones puntuales pueden influir en la afinidad o en la actividad intrínseca del receptor.