




Universidad  
de Concepción



# Modelamiento de farmacóforos


Dr. David Ramírez  
[dramirezs@udec.cl](mailto:dramirezs@udec.cl)



**Definición de la IUPAC.** Un modelo farmacóforo 3D se define como ***"un conjunto de características estéricas y electrónicas que son necesarias para asegurar las interacciones supramoleculares óptimas con un objetivo biológico (blanco terapéutico) y para desencadenar (o bloquear) su respuesta biológica"***.

**Modelamiento de farmacóforos:** la elucidación de un arreglo 3D de grupos funcionales que son necesarios para desencadenar una respuesta biológica definida. Los modelos farmacofóricos constan de características estéricas y electrónicas que representan funcionalidades químicas, como enlaces de hidrógeno, cargas, anillos aromáticos o áreas hidrófobas.

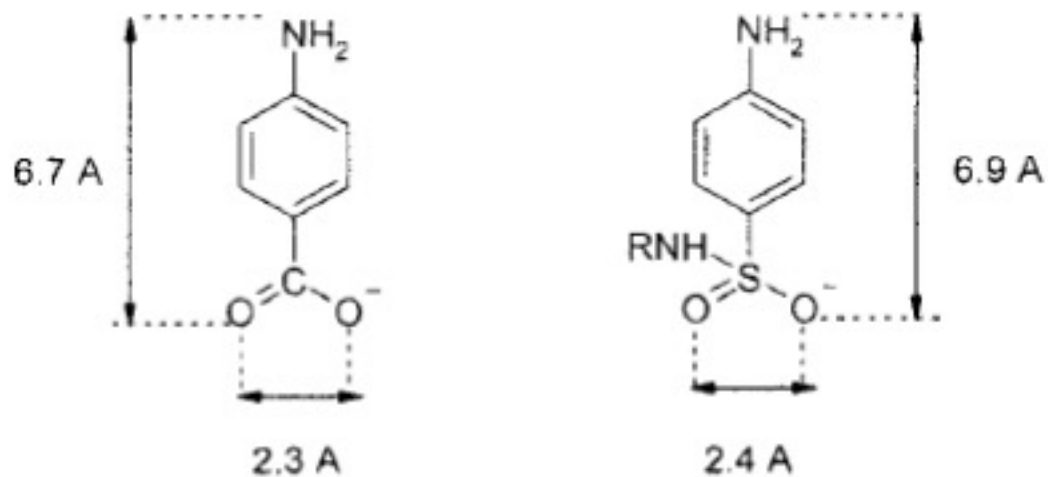
**Compuesto Hit:** un hit virtual es un compuesto que encaja en todos o un subconjunto definido de características químicas de un modelo farmacóforo y cumple sus restricciones estéricas. El resultado de examinar virtualmente una base de datos compuesta es la llamada "lista de resultados". De tal una lista de resultados, se seleccionan los compuestos para pruebas biológicas.



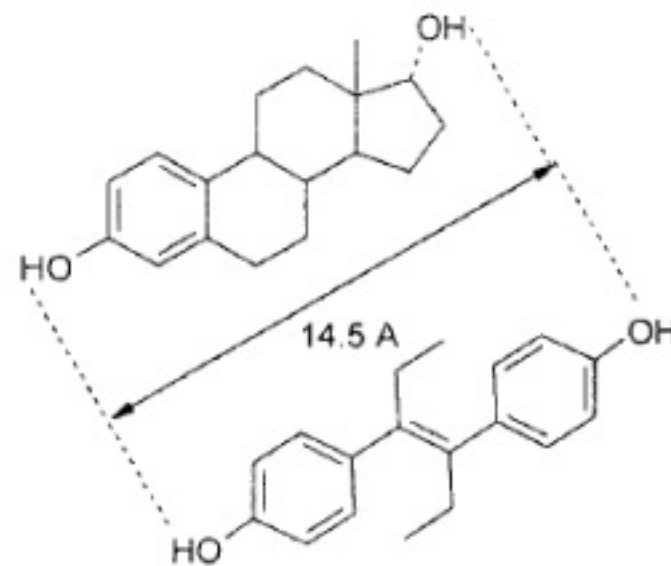
## Farmacóforos 2D .

Antes del CADD, los farmacóforos simples se describían en la literatura y se consideraban herramientas para el diseño de nuevas moléculas de fármacos.

Las consideraciones iniciales de relación estructura-actividad fueron accesibles en la década de 1940 gracias al conocimiento de las longitudes de enlaces y los radios de van der Waals que permitieron la construcción de estructuras de modelos bidimensionales simples. Con la disponibilidad del análisis de rayos X y la química conformacional, el acceso a modelos tridimensionales se hizo posible en la década de 1960.



Sulfonamidas



Estradiol / Trans dietilestilbestrol

## Farmacóforos 3D.

### Primeras aproximaciones

- Modelo de Easson & Stedman modelo de los 3 puntos de contacto (1933).
- Beckett (1959): Adrenalina v/s Noradrenalina
- Pullman (1972): Clonidina y su interacción con receptor  $\alpha$ -adrenérgico

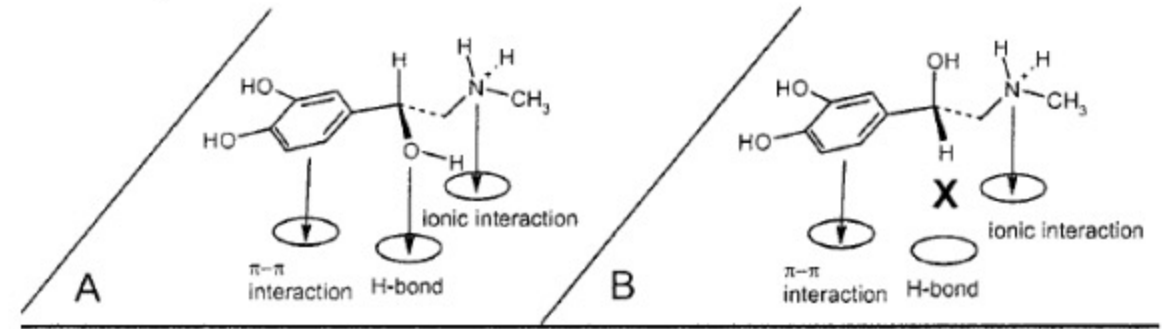
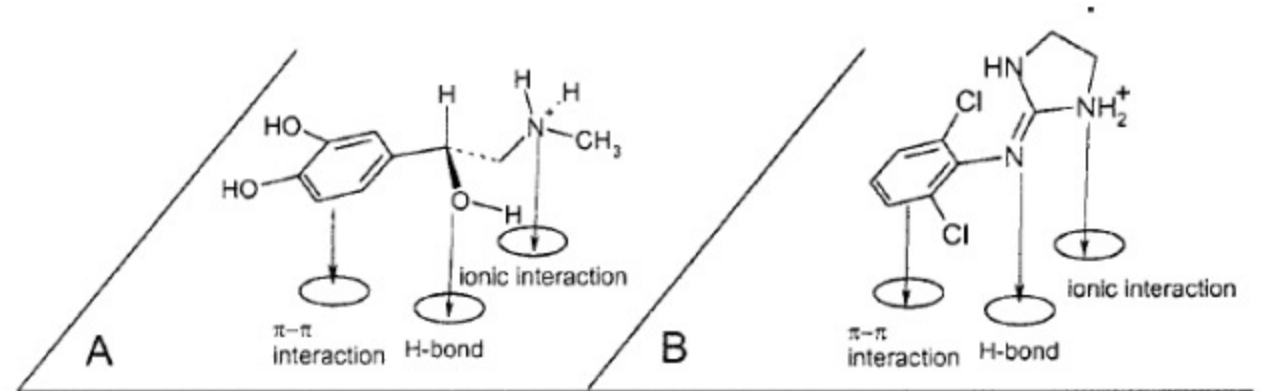
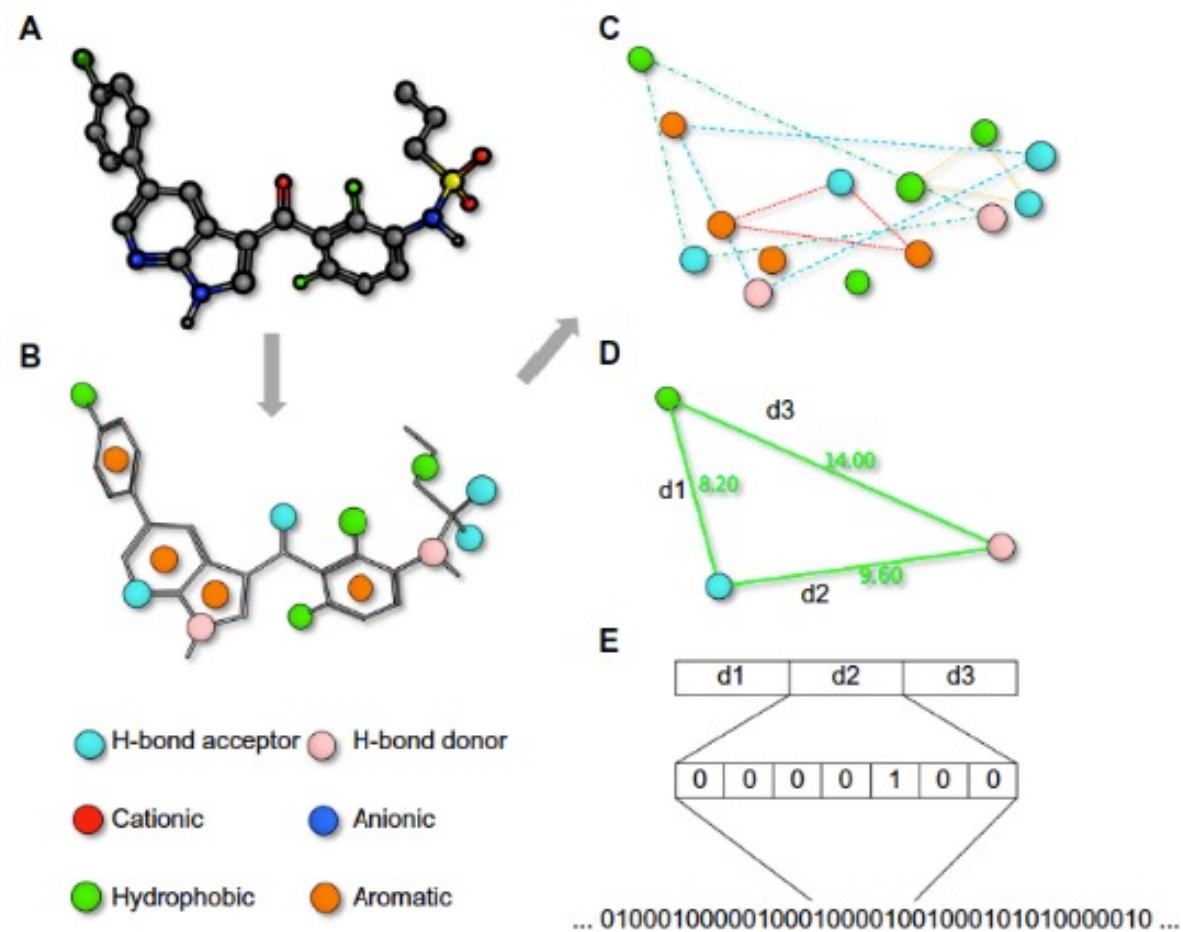


Fig. 1.3 Interaction capacities of the natural (R)-(-)-epinephrine and its (S)-(+)-antipode.















## Fingerprint en Farmacóforos

- Las moléculas son entidades 3D, la representación del farmacóforo reduce una molécula a una colección de características en el nivel 2D o 3D.
- Un fingerprint de farmacóforo es una extensión de este concepto y, anota una molécula como una cadena de datos única.
- Todos los posibles conjuntos de características (puntos) de farmacóforo de tres o cuatro puntos se enumeran para cada ligando.
- La distancia entre los puntos característicos se cuentan en enlaces (para fingerprint topológicos) o por distancias cuando se utilizan fingerprints 3D.
- El fingerprint resultante es una cadena que describe la frecuencia de cada combinación posible en posiciones predefinidas dentro de la cadena.



*Journal of Receptor, Ligand and Channel Research* 2014:7 81–92

- Las características químicas más comunes son donante de enlace de hidrógeno, aceptor de enlace de hidrógeno, hidrófobo, anillo aromático, ionizable positiva o negativamente e interacción metal-ión.
- Para tener en cuenta también el tamaño y la forma del sitio de unión proteína-ligando, los modelos de farmacóforos 3D pueden incluir características estéricas positivas y negativas (es decir, una restricción de forma o volúmenes de exclusión).

Aromatic interaction with positive ionizable	3.5 - 5.5 Å		
Aromatic interaction with ring (parallel)	2.8 - 4.5 Å		
Aromatic interaction with ring (orthogonal)	2.8 - 4.5 Å		
H-Bond interaction	2.2 - 3.8 Å		
Hydrophobic interaction	1.0 - 5.9 Å		
Iron binding location	1.3 - 3.5 Å		
Magnesium binding location	1.5 - 3.8 Å		
Manganese binding location	1.5 - 4.2 Å		
Negative ionizable interaction	1.5 - 5.5 Å		
Positive ionizable interaction with negative ionizable	1.5 - 5.5 Å		
Positive ionizable interaction with aromatic ring	1.0 - 10.0 Å		
Zinc binding location	1.0 - 4.0 Å		
Halogen bond interaction	2.0 - 5.0 Å		
		 Hydrogen Bond Donor = HBD	 Iron Binding Location = FEB
		 Hydrogen Bond Acceptor = HBA	 Zinc Binding Location = ZNB
		 Positive Ionizable Area = PI	 Magnesium Binding Location = MGB
		 Negative Ionizable Area = NI	 Manganese Binding Location = MNB
		 Hydrophobic Interactions = H	 Halogen Bond Donor = XBD
		 Aromatic Ring = AR	 Excluded Volume

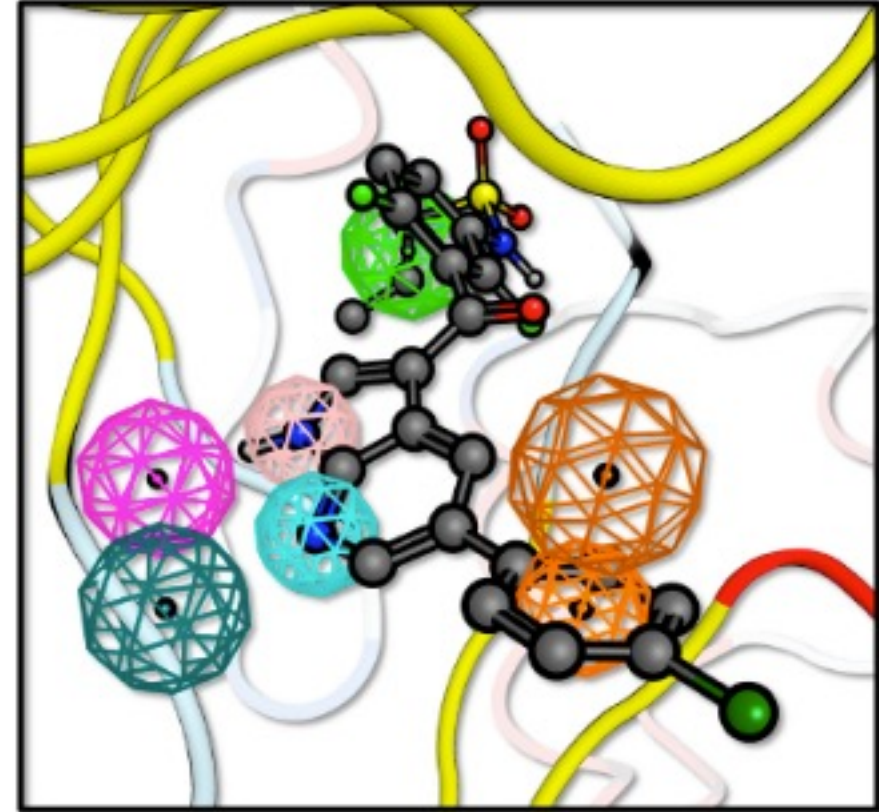
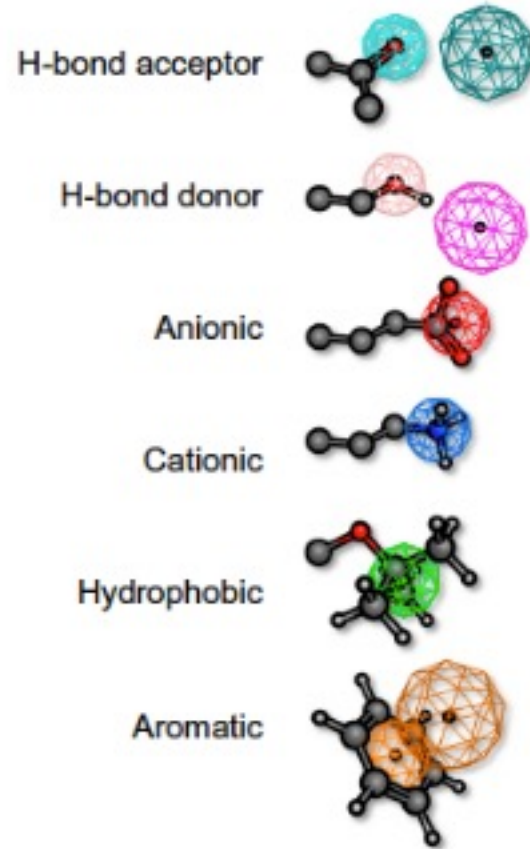


- Un modelo de farmacóforo consta de algunas características organizadas en un patrón 3D específico.

- Cada característica se representa típicamente como una esfera con un radio que determina la tolerancia.

- Las características se pueden etiquetar como una característica única o combinar diferentes patrones de interacción dentro de una etiqueta.

- Las características adicionales pueden describir interacciones de volumen prohibidas (típicamente para representar el límite del receptor).



## Programas Modelamiento Farmacofórico

	<b>Catalyst</b>	<b>Phase</b>	<b>LigandScout</b>	<b>MOE</b>
<b>Conformer generation and flexible search</b>	Pre-generation necessary, flexible tweaking supported	Pre-generation optional, lower screening speed if generated on-the-fly	Pre-generation and annotation necessary	Pre-generation necessary, annotation optionally on-the-fly
<b>Alignment strategy, geometric accuracy and scoring</b>	Feature tolerances are averaged, geometric incorrect alignments can also be scored and occur in hit-list	Decision tree with feature independent distance tolerance, least squares procedure, scoring by contributions from feature point alignments and geometric contributions	Pattern matching alignment algorithm, high geometric accuracy due to full tolerance sub-sampling, scoring by feature point alignments and optionally volume overlap	Clique detection with tolerance checking using a low-level state machine, scoring by feature RMSD
<b>Exclusion volume sphere interpretation</b>	Heavy atoms only with atom radii	Heavy atoms and hydrogens with atom radii	Heavy atoms and hydrogens with atom radii	Heavy atom centers without radii
<b>Supported feature types</b>	HBA, HBD, H, AR, PI, NI, XV, custom feature definitions possible	HBA, HBD, H, AR, PI, NI, XV, up to three custom feature definitions via SMARTS-patterns	HBA, HBD, H, AR, PI, NI, Zn/Mg/Fe MB, XV, open feature definition format (XML/SMARTS)	Depends on selected pharmacophore scheme, IV and XV supported



## Farmacóforos basados en Ligandos

En el enfoque basado en ligandos, el desarrollo de farmacóforos 3D se realiza alineando compuestos activos conocidos en función de sus funcionalidades químicas comunes.

En general para el desarrollo se puede describir mediante los siguientes pasos:

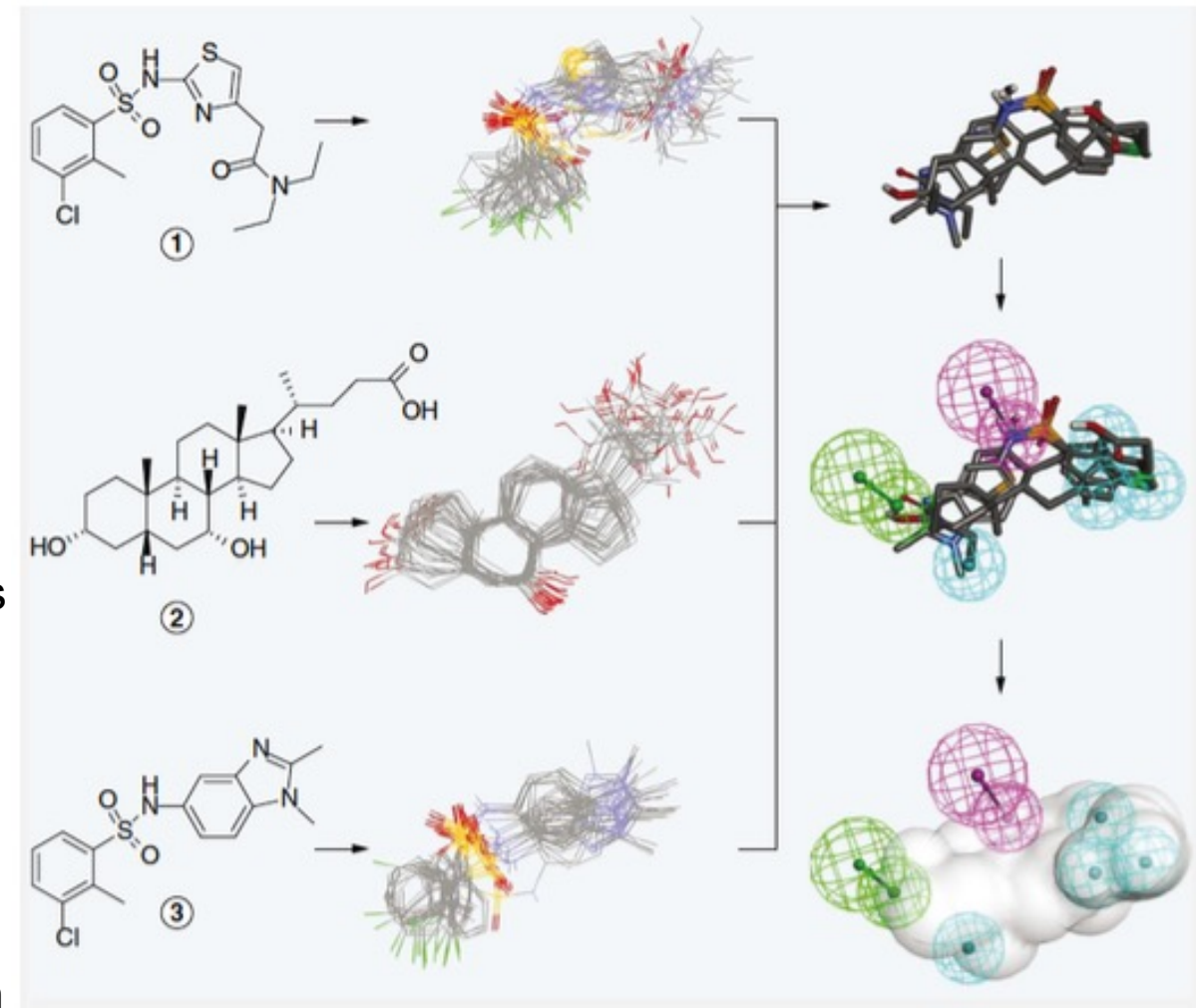
- Colección de compuestos con actividad biológica demostrada hacia el blanco terapéutico;
- División del conjunto de datos en un conjunto de entrenamiento y un conjunto de prueba;
- Análisis conformacional exhaustivo de los compuestos del conjunto de entrenamiento;
- Alineación 3D de compuestos de entrenamiento y elucidación de farmacóforos;
- Selección del modelo farmacóforo final basado en una validación teórica utilizando los compuestos del conjunto de prueba.

Cuando se dispone de un conjunto de ligandos activos de estructura conocida, con esqueletos similares o diferentes, es posible utilizar un modelo de farmacóforo basado en ligando.

La elucidación del farmacóforo putativo implica dos pasos:

- 1) El espacio conformacional de las moléculas flexibles debe cubrirse ampliamente ya que se desconocen las conformaciones bioactivas.
- 2) Las moléculas deben alinearse mediante características farmacofóricas comunes, que pueden retenerse en un modelo 3D. Utilizando derivados inactivos (decoys), se puede mapear la esencia de estas, y la disposición estérica permitida de los ligandos.

Catalyst-HypoGen se destaca ya que combina QSAR y el modelado farmacofórico. HypoGen no solo identifica un compuesto de consulta como "activo" o "inactivo" o, sino que también predice el valor de la actividad basándose en la regresión del conjunto de datos de entrenamiento.



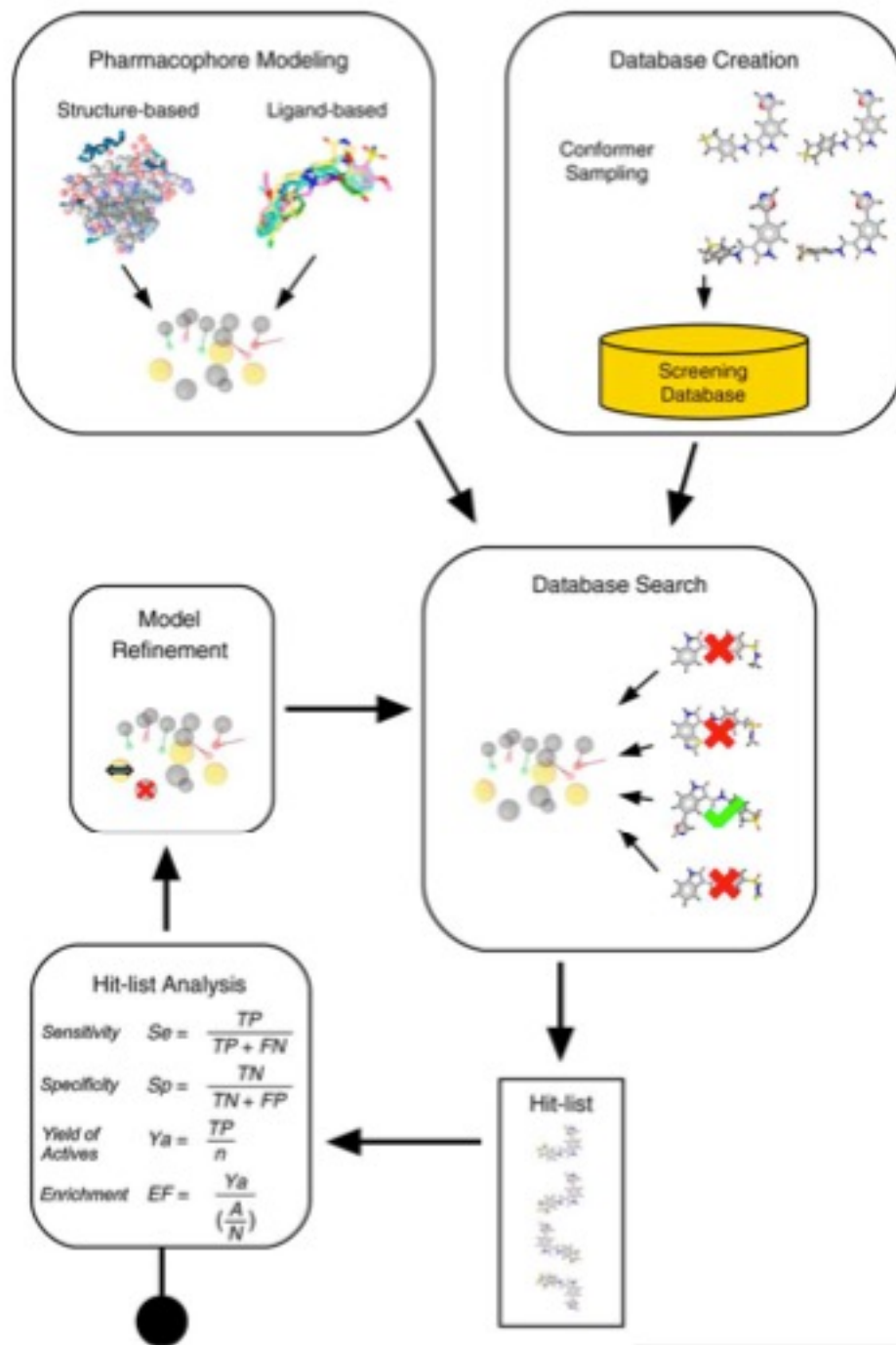
## Validación de modelos de Farmacóforos

Los modelos de farmacóforo 3D candidatos se someten a una validación teórica para seleccionar el modelo de farmacóforo con los mejores resultados como modelo de farmacóforo final para una campaña de VS. Hay varias métricas disponibles para investigar la tasa de enriquecimiento obtenida en los experimentos de VS de un conjunto de datos de validación.

Este conjunto de datos generalmente consiste en un conjunto de prueba con compuestos activos e inactivos que no se utilizan para el desarrollo del farmacóforo 3D y un conjunto de señuelos, que se ensamblan a partir de compuestos que son similares a los compuestos activos en el conjunto de datos de validación en términos de propiedades fisicoquímicas.

Una métrica ampliamente utilizada es el factor de enriquecimiento (EF):  $EF = (TP/n) / (A/N)$

Donde TP son los verdaderos aciertos positivos, n es el número de todos los compuestos encontrados por el modelo, A son todos los compuestos activos en la base de datos de validación y N todos los compuestos en el conjunto de datos de validación (compuestos activos y señuelos).



## Virtual Screening Usando Farmacóforos

- 1) Selección base de datos ligandos (Ej.CHEMBL)
- 2) Generación de conformaciones para cada ligando
- 3) Clustering
- 4) Selección compuestos grupo **Training**
- 5) Generación modelos Farmacofóricos
- 6) Validación con Activos y Señuelos
- 7) Análisis Resultados (Curva ROC, Rendimiento de activos, EF)
- 8) Refinar modelos

- 1) Selección base de datos ligandos (Ej. ChEMBL)
- 2) Generación de conformaciones para cada ligando
- 3) Clustering

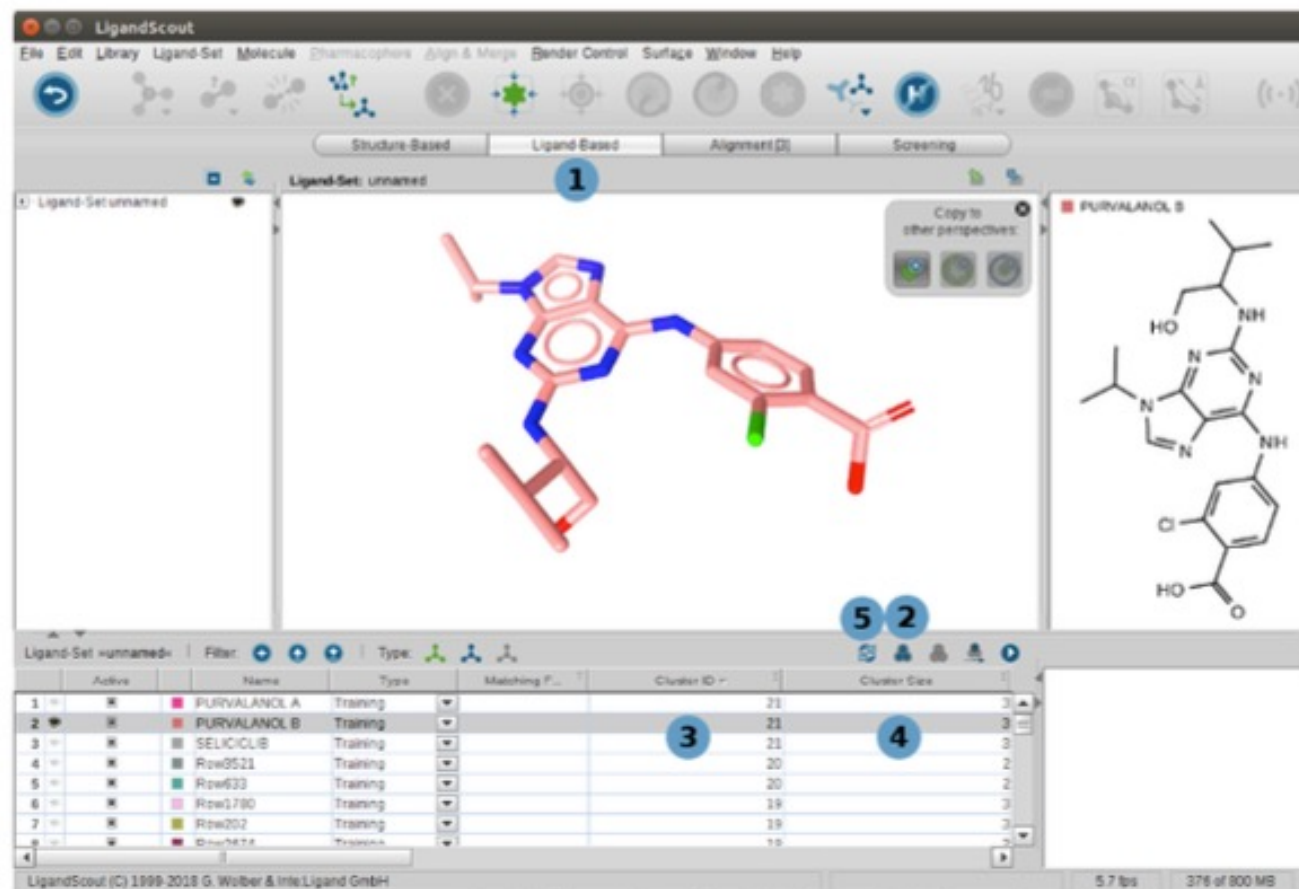
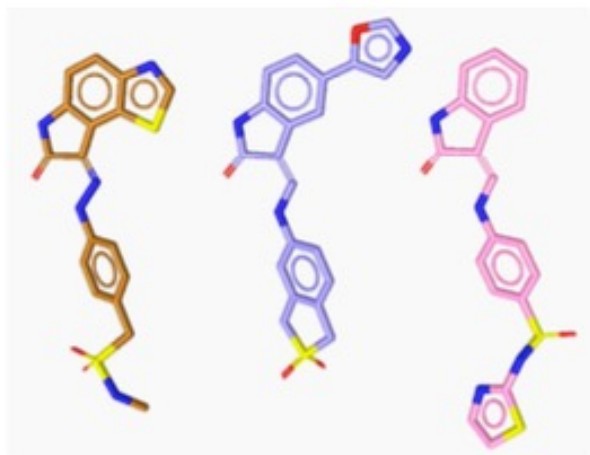


Figure 8.3. Ligand-Based Modeling Perspective (1), Cluster Ligand-Set (2), Cluster ID (3), Cluster Size (4), Generate Conformations for Ligand-Set (5)



- 4) Selección compuestos grupo **Training**
- 5) Generación modelos Farmacofóricos

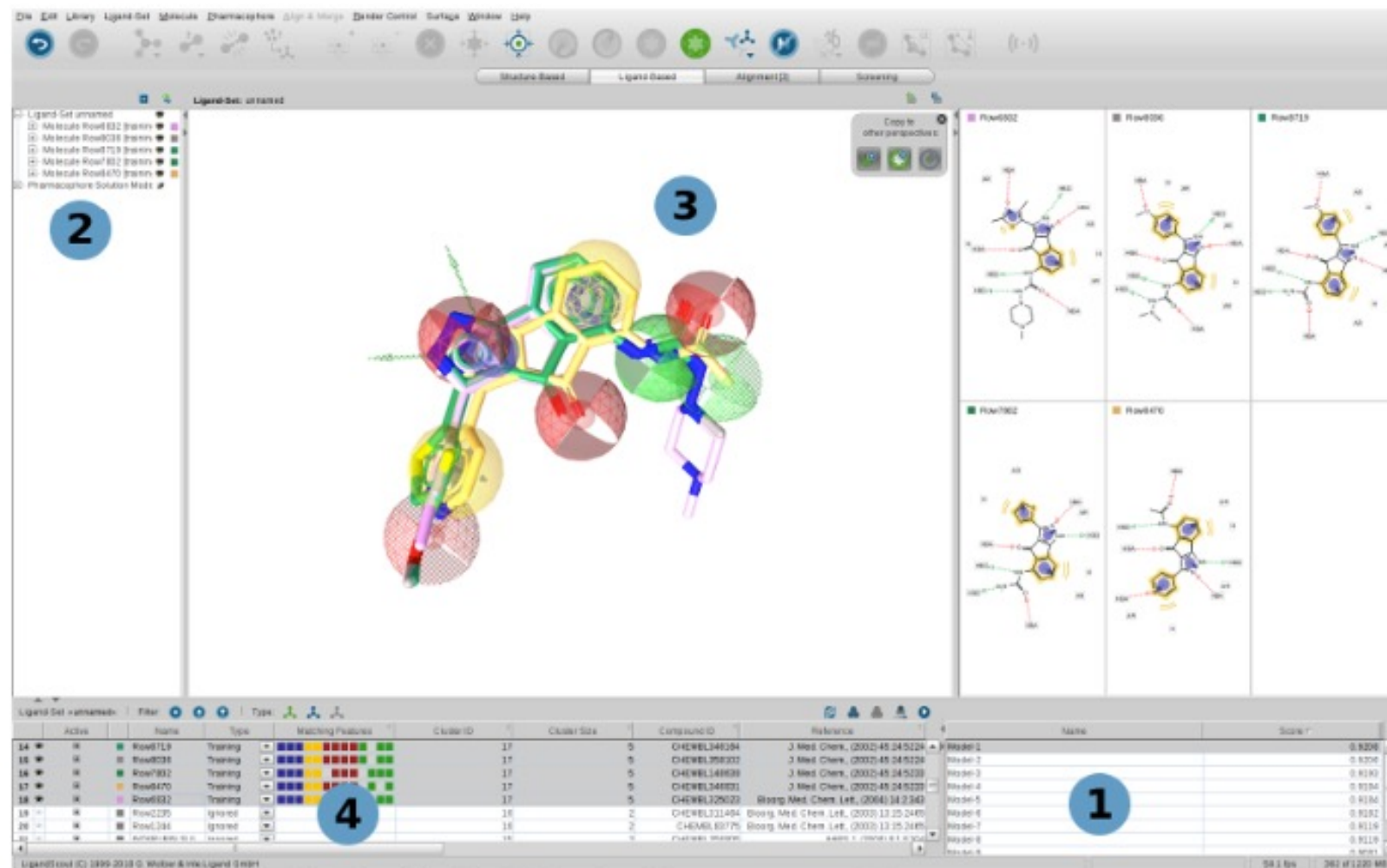
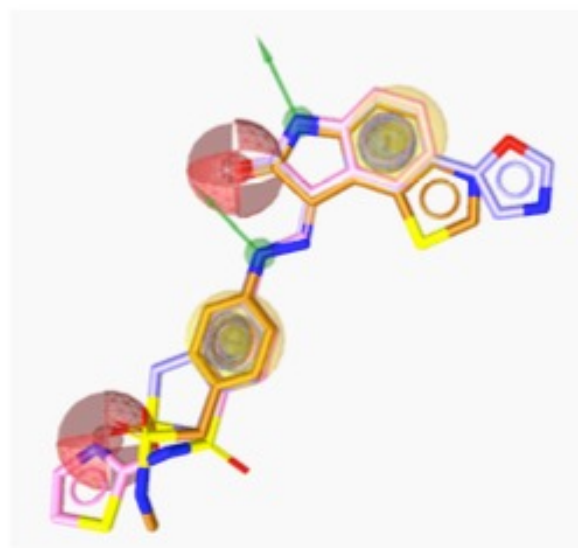
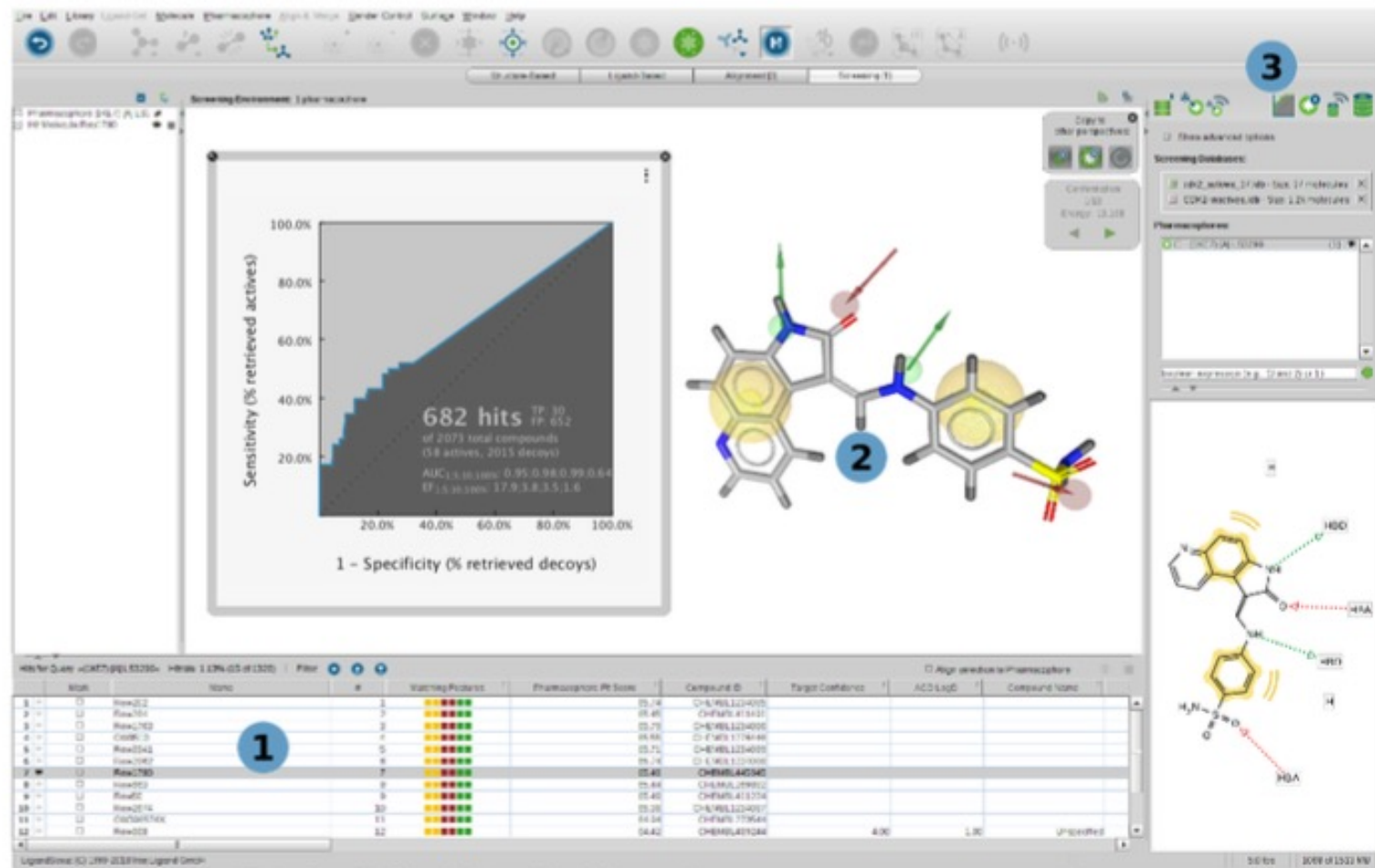


Figure 8.5. Results Table (1), Hierarchy View (2), 3D View (3), Feature Pattern (4)

- 6) Validación con Activos y Señuelos
- 7) Análisis Resultados (Curva ROC, Rendimiento de activos, EF).
- 8) Refinar modelos



La sensibilidad (Se) es la proporción de los compuestos positivos verdaderos TP recuperados a todos los compuestos activos en la base de datos, que es la suma de TP y el número de compuestos negativos falsos FN. Los valores de sensibilidad pueden variar de 0 a 1, donde Se = 0 significa que la búsqueda no encontró ninguno de los activos en la base de datos y Se = 1 significa que la búsqueda devolvió todos los compuestos activos.

$$Se = \frac{TP}{TP + FN}$$

La especificidad (Sp) es la cantidad de compuestos TN verdaderamente negativos rechazados dividida por la suma de TN y el número de compuestos falsos positivos recuperados FP. La especificidad varía de 0 a 1 y denota el porcentaje de compuestos verdaderamente inactivos. Sp = 0 significa que ninguno de los compuestos inactivos pudo identificarse como tal y Sp = 1 significa que todos los compuestos inactivos se han rechazado correctamente durante el proceso de selección.

$$Sp = \frac{TN}{TN + FP}$$

El rendimiento de activos (Ya) es una medida que muestra la cantidad de compuestos verdaderamente activos TP recuperados en relación con el tamaño de la lista de n aciertos. El rendimiento de activos se puede utilizar, por ejemplo, para comparar listas de resultados recuperadas para bases de datos creadas con diferentes técnicas de muestreo de conformadores.

$$Ya = \frac{TP}{n}$$

El factor de enriquecimiento (EF) mide el rendimiento de activos proporcionalmente a la proporción de activos en la base de datos, donde A es la cantidad de activos en la base de datos y N es el número total de moléculas de la base de datos (sin incluir sus conformaciones).

$$EF = \frac{Ya}{A/N}$$

## Limitaciones Virtual Screening Usando Farmacóforos

La principal limitación es la ausencia de buenas métricas de scoring. Comúnmente, la calidad de ajuste se mide con el RMSD entre las características de la consulta y los átomos de la molécula. Sin embargo, esta métrica no considera la ninguna similitud con inhibidores conocidos. Tampoco predice la compatibilidad general con el receptor

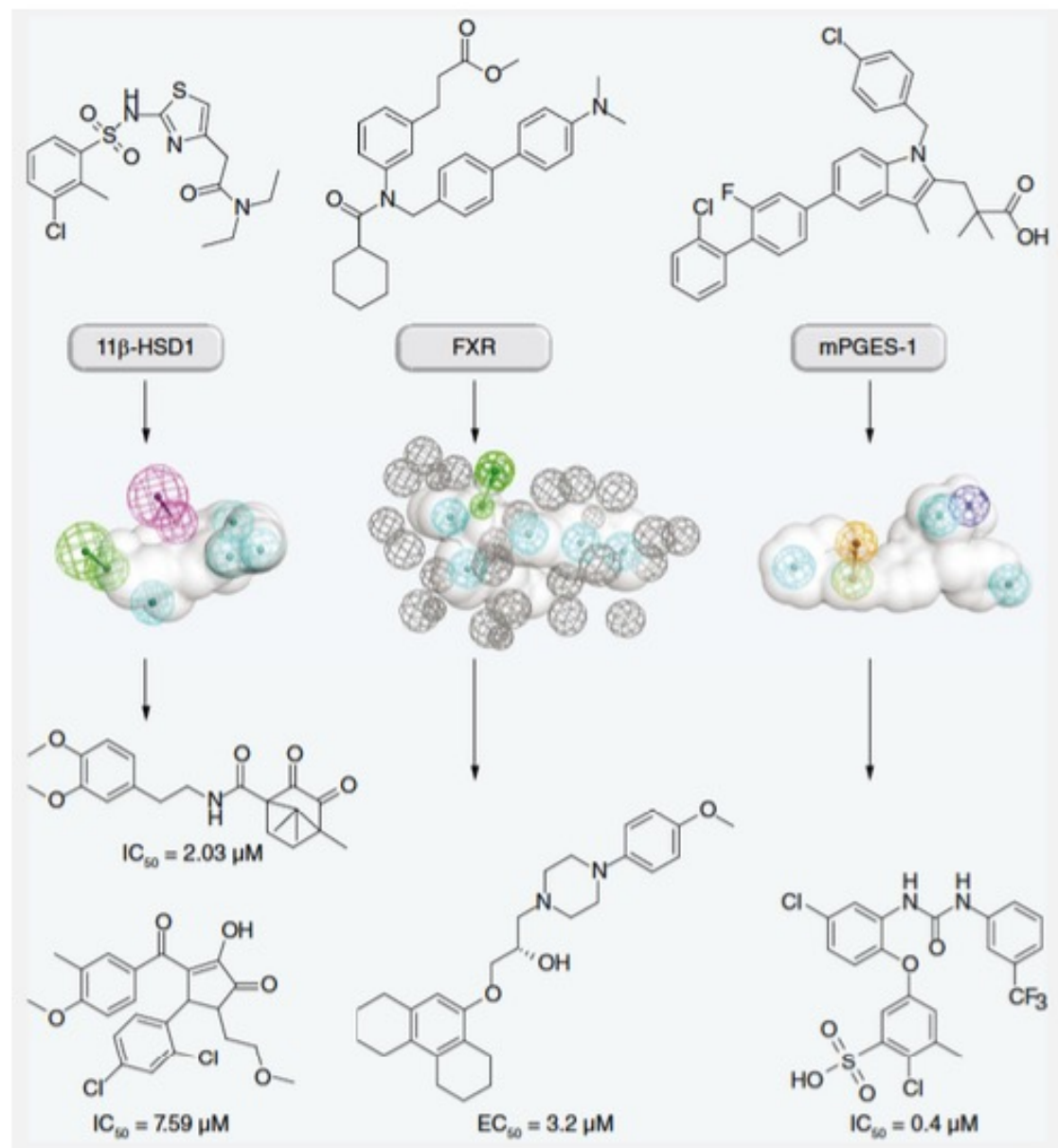
Una segunda limitación un screening virtual basada en farmacóforos es la dependencia de una base de datos de conformaciones precalculada. A menudo, las herramientas de búsqueda de farmacóforos pueden rotar dichos enlaces durante el proceso de ajuste para obtener conformaciones con direcciones correctas en los pequeños grupos polares flexibles.

Finalmente, una limitación importante es que no existe una forma clara de construir una modelo consulta de farmacóforo. En muchos casos, los modelos de farmacóforos son capaces de recuperar moléculas, pero pueden funcionar diferentes modelos.

# Ejemplos Virtual Screening Usando Farmacóforos

Schuster D, Maurer EM, Laggner C et al.  
The discovery of new 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 inhibitors by common feature pharmacophore modeling and virtual screening. *J. Med. Chem.* 49(12), 3454–3466 (2006).

Waltenberger B, Wiechmann K, Bauer J et al.  
Pharmacophore modeling and virtual screening for novel acidic inhibitors of microsomal prostaglandin E(2) synthase-1 (mPGES-1). *J. Med. Chem.* 54(9), 3163–3174 (2011).





## Common Hits Approach: Combining Pharmacophore Modeling and Molecular Dynamics Simulations

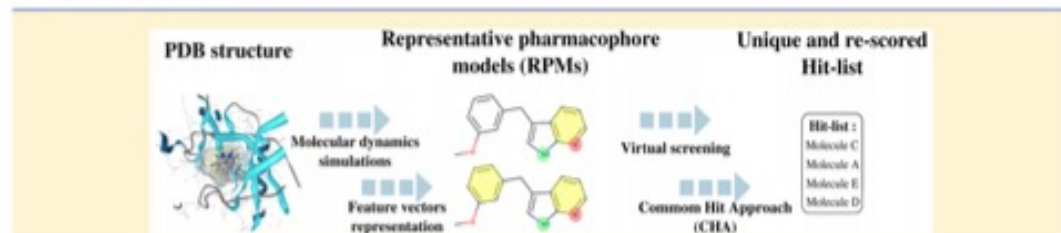
Marcus Wieder,<sup>\*,†,‡</sup> Arthur Garon,<sup>†</sup> Ugo Perricone,<sup>†,§</sup> Stefan Boresch,<sup>‡</sup> Thomas Seidel,<sup>†</sup> Anna Maria Almerico,<sup>‡</sup> and Thierry Langer<sup>†</sup>

<sup>†</sup>Faculty of Life Sciences, Department of Pharmaceutical Chemistry, University of Vienna, Althanstraße 14, 1090 Vienna, Austria

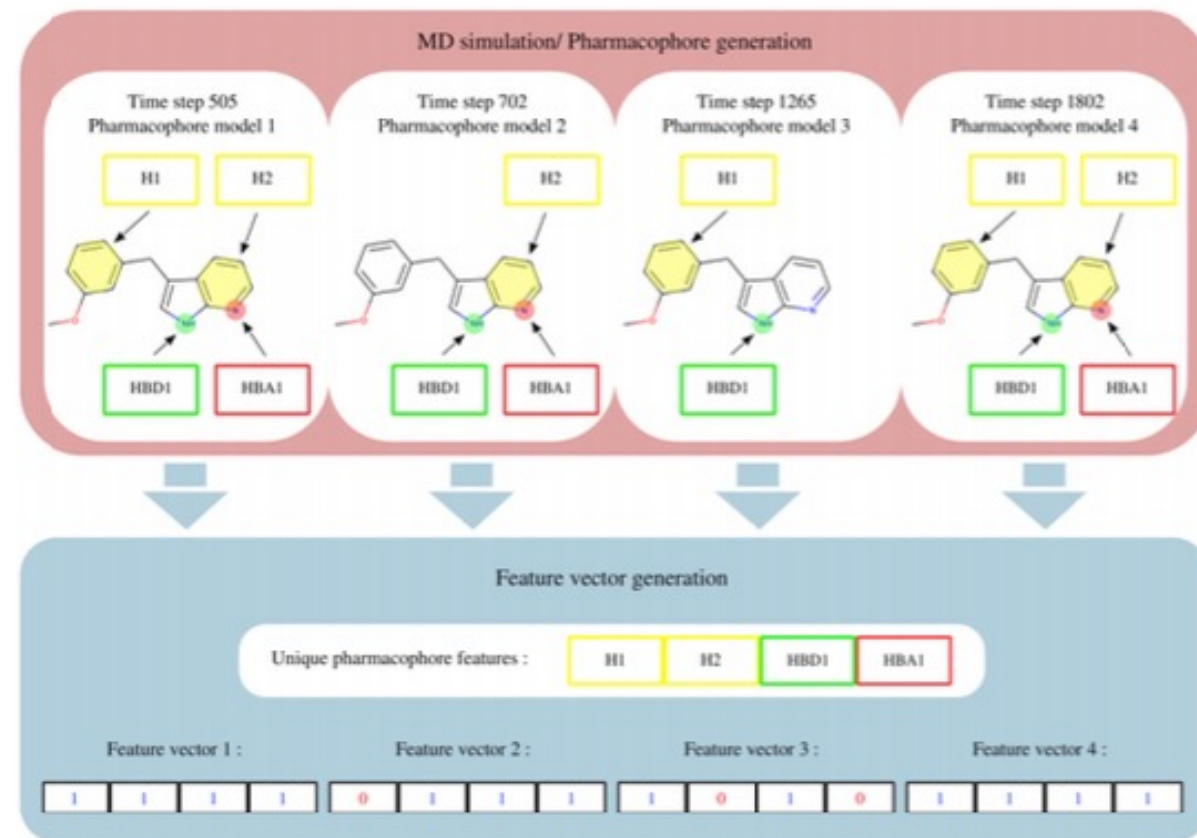
<sup>‡</sup>Faculty of Chemistry, Department of Computational Biological Chemistry, University of Vienna, Währingerstraße 17, 1090 Vienna, Austria

<sup>§</sup>Department of Biological, Chemical and Pharmaceutical Sciences and Technologies (STEBICEF), University of Palermo, Via Archirafi 32, Palermo, Italy

 Supporting Information



*J. Chem. Inf. Model.* 2017, 57, 2, 365–385





ELSEVIER



COMPUTATIONAL  
AND STRUCTURAL  
BIOTECHNOLOGY  
JOURNAL

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/csbj](http://www.elsevier.com/locate/csbj)



# Application of ensemble pharmacophore-based virtual screening to the discovery of novel antimitotic tubulin inhibitors



Laura Gallego-Yerga<sup>a,b,c</sup>, Rodrigo Ochoa<sup>d</sup>, Isaías Lans<sup>d</sup>, Carlos Peña-Varas<sup>e</sup>, Melissa Alegría-Arcos<sup>f</sup>, Pilar Cossio<sup>d,g</sup>, David Ramírez<sup>e,\*</sup>, Rafael Peláez<sup>a,b,c,\*</sup>

<sup>a</sup> Laboratorio de Química Orgánica y Farmacéutica, Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Farmacia, Universidad de Salamanca, Salamanca, Spain

<sup>b</sup> Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca (IBSAL), Facultad de Farmacia, Universidad de Salamanca, Salamanca, Spain

<sup>c</sup> Centro de Investigación de Enfermedades Tropicales de la Universidad de Salamanca (CIETUS), Facultad de Farmacia, Universidad de Salamanca, Salamanca, Spain

<sup>d</sup> Biophysics of Tropical Diseases, Max Planck Tandem Group, University of Antioquia UdeA, 050010 Medellín, Colombia

<sup>e</sup> Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidad Autónoma de Chile, Santiago 8900000, Chile

<sup>f</sup> Facultad de Ingeniería y Negocios, Universidad de las Américas, Santiago, Chile

<sup>g</sup> Center for Computational Mathematics, Flatiron Institute, NY, United States