

hipÓtesis

Apuntes científicos uniandinos

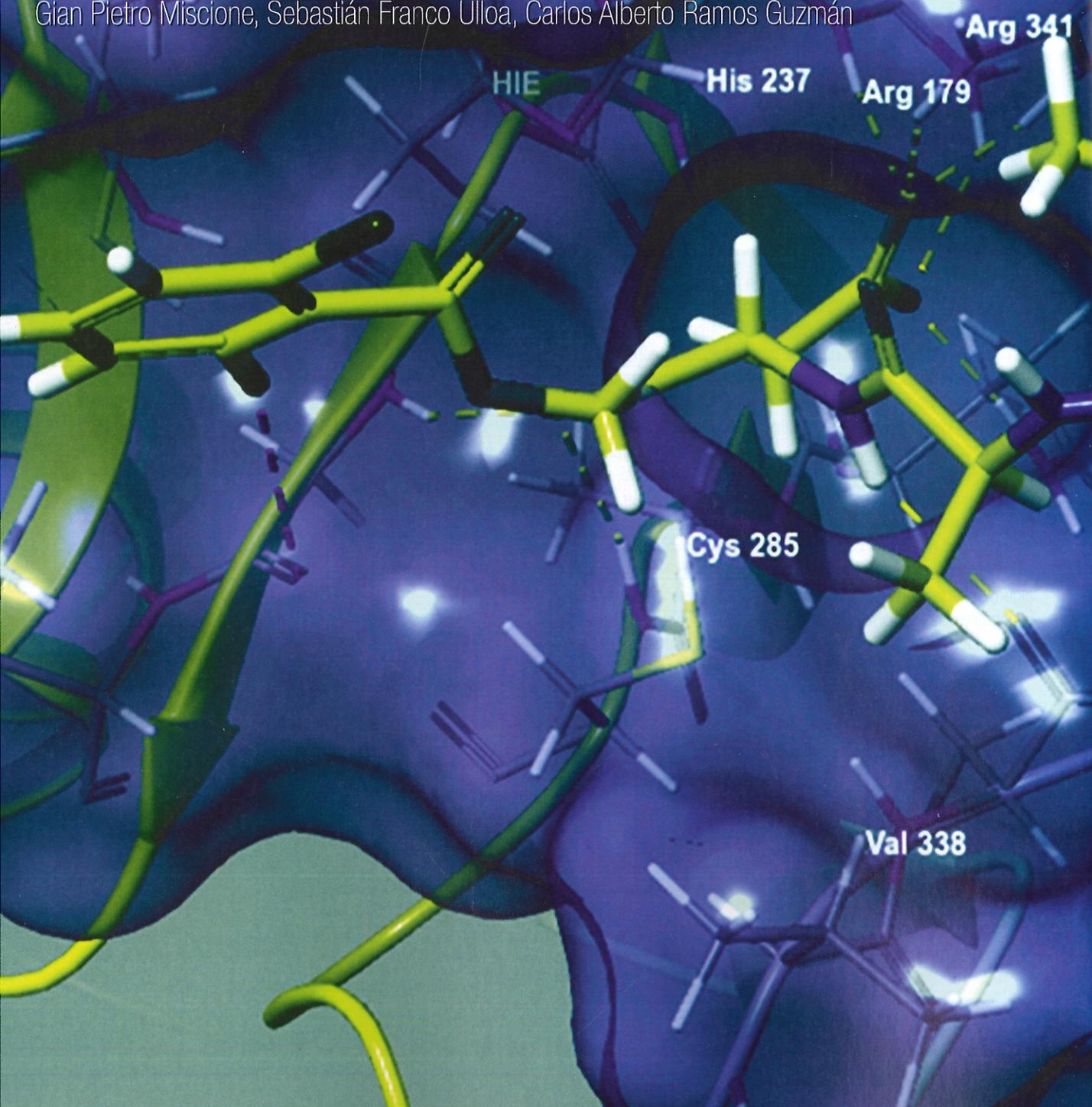


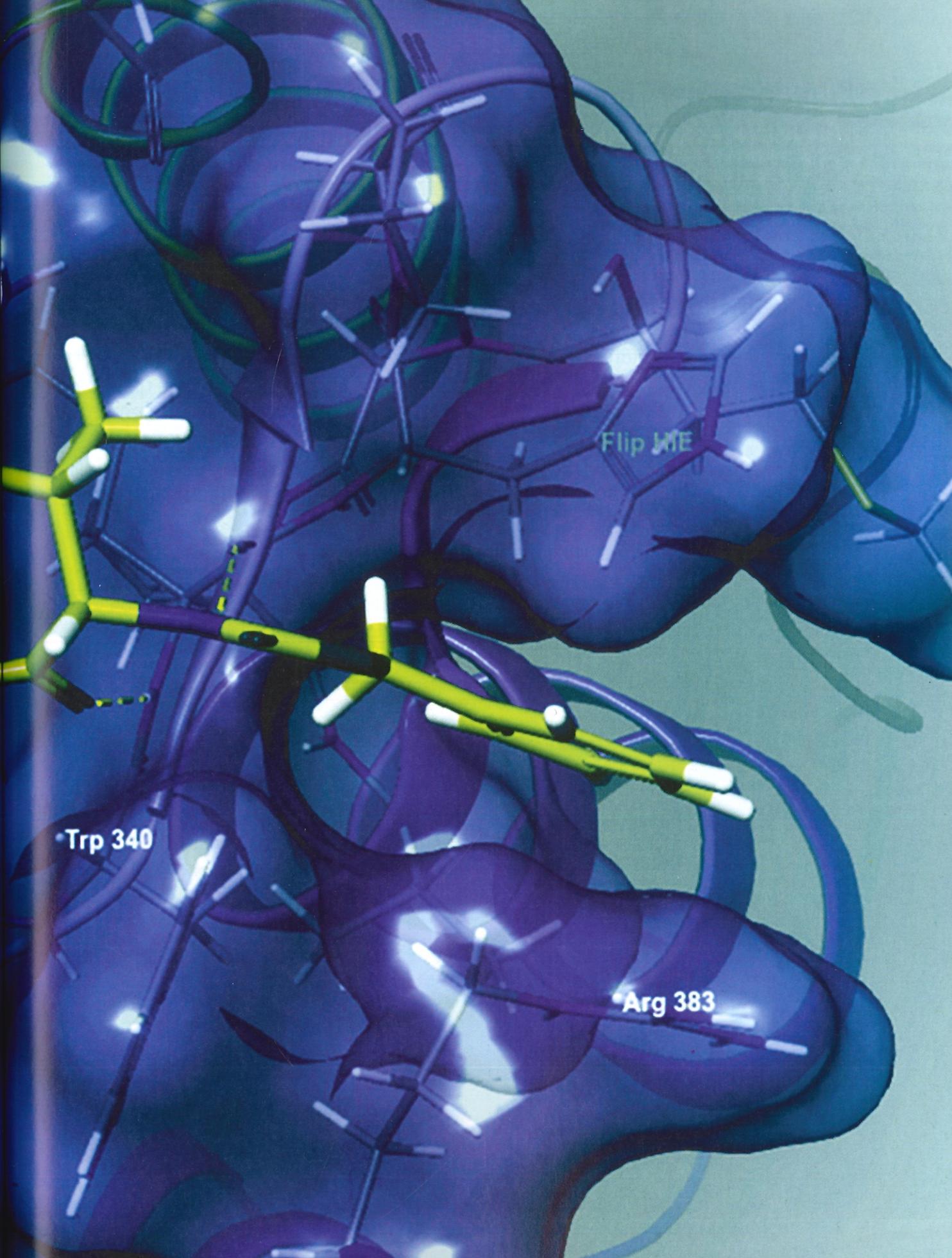
Jugando a ser Dios:

la evolución del diseño de medicamentos y el rol de los métodos computacionales

Jugando a ser Dios: la evolución del diseño de medicamentos y el rol de los métodos computacionales

Gian Pietro Miscione, Sebastián Franco Ulloa, Carlos Alberto Ramos Guzmán





Flip ME

• Trp 340

• Arg 383

Jugando a ser Dios: la evolución del diseño de medicamentos y el rol de los métodos computacionales

Gian Pietro
Miscione

Ph. D., profesor asistente
y director del Grupo de
Investigación COBO
(Computacional Bio- Organic
Chemistry Bogotá) del
Departamento de Química de la
Universidad de los Andes
gp.miscione57@uniandes.edu.co

Sebastián
Franco Ulloa

Químico, estudiante de física en
la Universidad de los Andes
s.franco1412@uniandes.edu.co

Carlos Alberto
Ramos Guzmán

Químico, estudiante de Maestría
en Ciencias-Química en la
Universidad de los Andes
ca.ramos10@uniandes.edu.co

Una tarde de verano de 1897, un joven químico alemán llamado Felix Hoffmann estaba llevando a cabo una reacción química en un laboratorio de la empresa farmacéutica Bayer. Esperaba que el producto le sirviera para aliviar los dolores reumáticos de su padre sin causar el cada vez más desagradable malestar gástrico que acompañaba al remedio que tomaba desde hace años.

Cuando terminó su trabajo, apuntó en su cuaderno de laboratorio que el nuevo compuesto no tenía propiedades corrosivas, y por lo tanto era muy prometedor. Hoffmann regresó a casa feliz, con una buena noticia para su padre: tal vez pronto podría tomar un nuevo medicamento para la artritis, y tal vez su acidez estomacal desaparecería. Era el 10 de agosto de 1897; Felix Hoffmann acababa de sintetizar el fármaco probablemente más famoso y utilizado de todos los tiempos: la aspirina.

Durante siglos se conoció el poder analgésico y antiinflamatorio de las hojas y la corteza de algunas plantas, incluyendo especialmente el sauce. El mismo Hipócrates, considerado el padre de la medicina occidental, prescribía la savia derivada de la corteza de ese árbol para curar la fiebre y los dolores en general. Esos remedios funcionaban —y funcionan— porque contienen una molécula llamada *ácido salicílico*, que tiene la capacidad de aliviar el dolor. No obstante, causa gastritis y úlceras.

Lo que Hoffmann hizo ese día fue modificar ligeramente el ácido salicílico, sustituyendo el H del grupo OH con un grupo un poco más grande: el acetilo. El resultado es el ácido acetilsalicílico, es decir, el nombre químico de la aspirina. Aunque el cambio parece pequeño, es suficiente para que la nueva molécula mantenga los efectos deseados y no los nocivos. El mismo nombre de *aspirina* está forma-

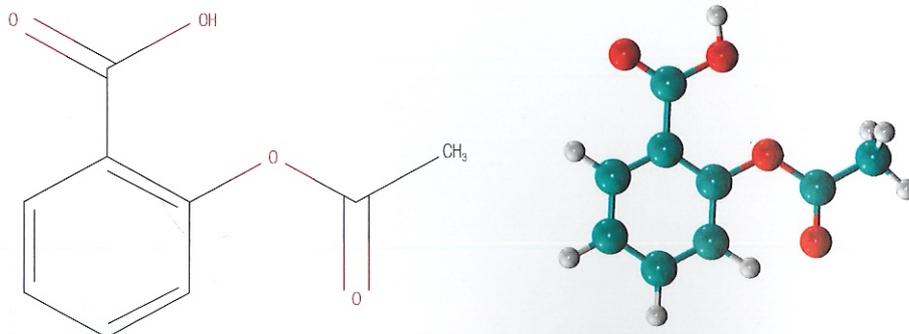


Figura 1. Estructura química del ácido acetilsalicílico (aspirina).
Fuente: autores

do por el prefijo *a-*, para el grupo acetilo; por *-spir-*, de *Spiraea ulmaria*, una planta de la que se obtiene el ácido salicílico, y el sufijo *-ina*, por lo general utilizado para las drogas en aquella época. Esa "a" inicial es muy significativa, pues hace referencia a una modificación introducida por el hombre en un compuesto natural, que además es capaz de transformarlo en algo mejor. En otras palabras, esta pequeña "a" nos dice que el hombre, aunque a menudo inspirado por compuestos naturales, puede producir medicamentos que nos curan mejor que la naturaleza misma. De hecho, la síntesis de la aspirina fue uno de los primeros pasos de la industria farmacéutica.

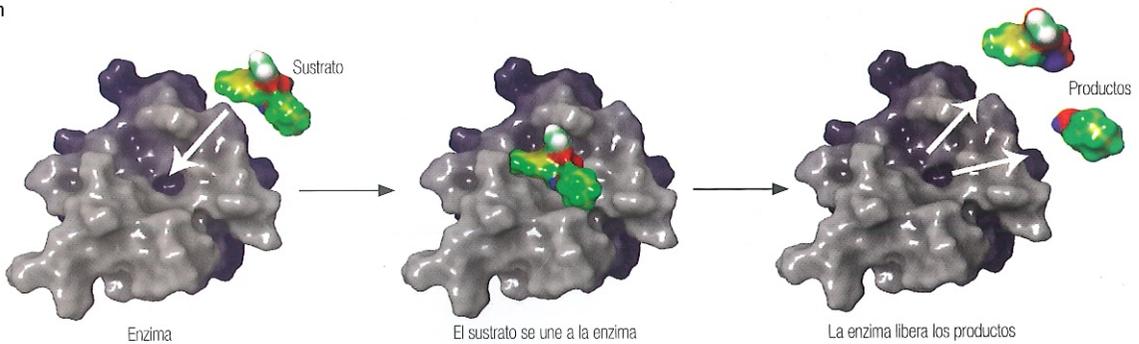
Dicho sea de paso, al igual que para muchos descubrimientos o invenciones históricas, hay disputas sobre la paternidad real de la aspirina. Se atribuye también, o exclusivamente, a un colega de Hoffmann, aunque Bayer lo considera a él como el único autor del descubrimiento. De modo similar a la aspirina, once días después de su descubrimiento, el 21 de agosto de 1897, evidentemente encontrándose a gusto con este tipo de problemas, Hoffmann introdujo un grupo acilo también en otro compuesto natural, la morfina, y así sintetizó por primera vez la heroína. La heroína fue puesta inmediatamente a la venta, convirtiéndose en uno de los medicamentos más vendidos en el mundo por sus propiedades sedantes, pero fue retirada unas décadas más tarde por sus efectos secundarios.

Sin embargo, a pesar del éxito secular del ácido acetilsalicílico, Hoffmann tenía una idea vaga sobre su estructura, y básica-

mente ninguna acerca de su mecanismo de acción. Así como todos los químicos de aquella época, su trabajo se basaba en su experiencia propia y la de los demás, además de un gran componente: la imaginación. En este instante, el mismo concepto de *átomo* no estaba plenamente aceptado. En otras palabras, Hoffmann sabía que una sustancia extraída de algunas plantas tenía ciertos efectos; había que cambiarla un poco con la esperanza de que mantuviera unos y perdiera otros. ¿Cómo? Sobre todo, haciendo pruebas y estableciendo analogías con otros experimentos en el pasado. Habría que esperar más de setenta años para que un científico británico, John Vane, comprendiera el mecanismo con que actúa la aspirina, por lo que recibiría el Premio Nobel de Medicina en 1982.

Entonces, ¿cómo funciona la aspirina? La aspirina, así como la mayoría de los fármacos, funciona porque bloquea la actividad de una enzima, en este caso de una involucrada en el proceso de inflamación y de transmisión del dolor. La inflamación es un mecanismo de defensa activado por nuestro organismo contra bacterias, virus y, en general, agentes que nos amenazan. Normalmente es acompañada por hinchazón, enrojecimiento, calor y dolor. La fiebre es un ejemplo típico, ya que sirve —con el aumento de la temperatura corporal— para prevenir la replicación de los microorganismos que nos están infectando. Por lo tanto, en muchos casos, la inflamación es necesaria y beneficiosa, mientras que en otros es fuente de problemas. Por ejemplo, en la artritis reumatoide, enfermedad que padecía el padre de Hoffman y —según algunas teorías— en otras enfermedades,

a) Reacción



b) Inhibición

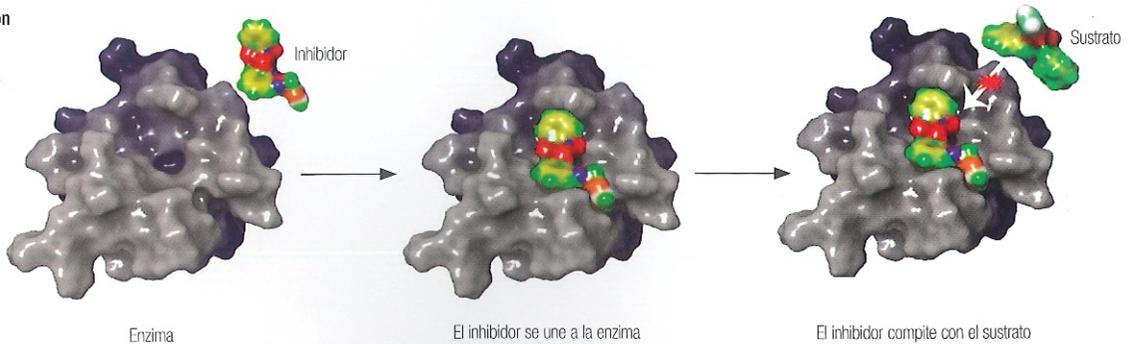


Figura 2. Representación de un compuesto introducido en el sitio activo de una enzima.
Fuente: autores



Figura 4. Felix Hoffmann.
Fuente: <https://twitter.com/Bayer/status/441591901007794176>

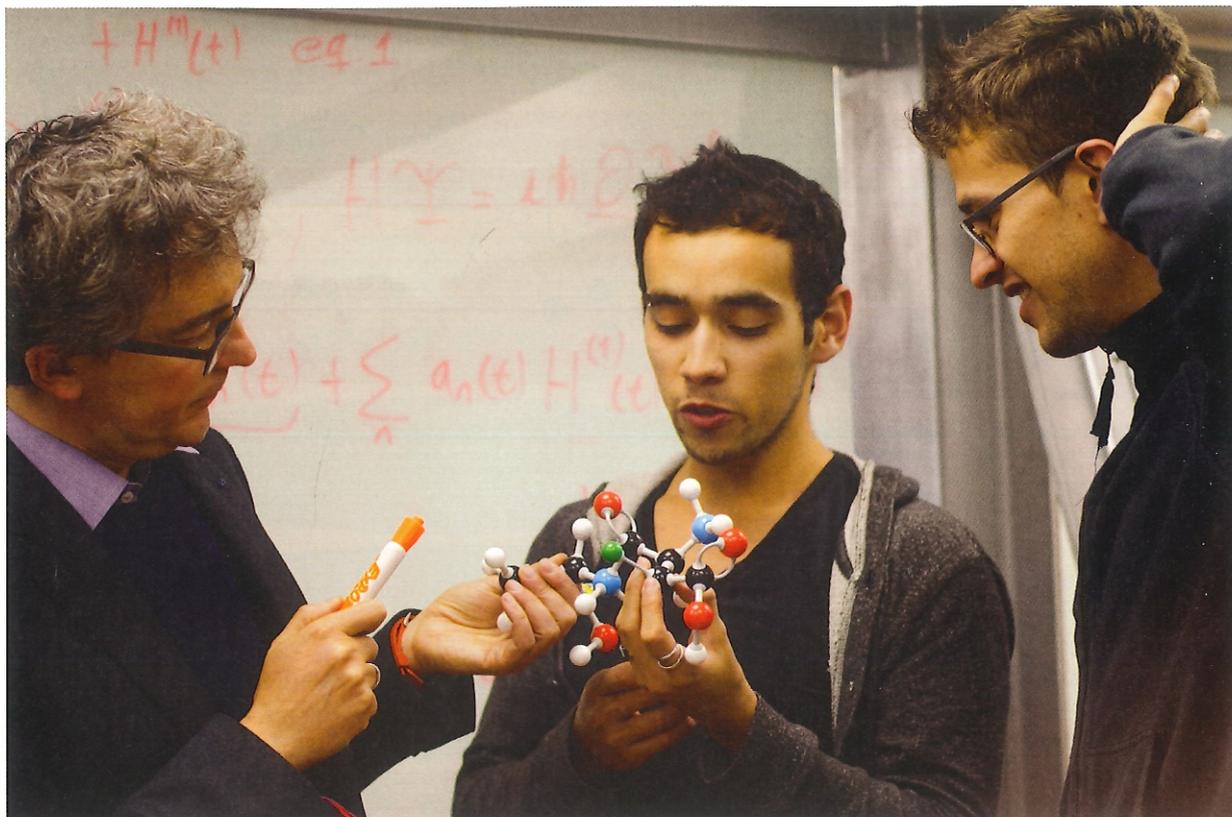


Figura 4. Miembros del grupo Computacional Bio- Organic Chemistry Bogotá (COBO) discuten de la estructura de un posible inhibidor enzimático.
Fuente: Carlos Ramos Guzmán

como el Alzheimer. En estos casos, por razones a menudo no muy claras, la inflamación se desata cuando no debería, o sea, sin que exista una amenaza, lo que provoca un daño innecesario al cuerpo. En cualquier caso, beneficiosa o activada sin razón, la inflamación tiene efectos secundarios: cuando nos da fiebre, estamos mal, deseamos que pase rápidamente... ¡y tomamos una aspirina! La aspirina, de hecho, inhibe la actividad de la ciclooxigenasa, una enzima que participa en el proceso inflamatorio y de transmisión del dolor: Si la ciclooxigenasa se inhibe, la inflamación se reduce y sentimos menos dolor.

Entonces, ¿cómo se inhibe una enzima? Podemos imaginar las enzimas como ovillos aparentemente caóticos formados por miles de átomos. En esta maraña existe un bolsillo (llamado “sitio activo”) capaz de alojar la sustancia (o sustancias) con la que interactuará, que se conoce como *sustrato*. En la figura 2a se muestra un esquema de cómo el sustrato encaja en un sitio activo de una enzima. Una vez que el sustrato alcanza el sitio activo, una reacción química se lleva a cabo y se obtiene un producto que sale de la enzima. Asimismo, este ciclo se puede repetir indefinidamente. En el mecanismo de inhibición (figura 2b), el sustrato es reemplazado por una molécula —el inhibidor—, que tiene una interacción más favorable con la enzima. Así, el sustrato original ya no puede acceder al sitio activo y por

lo tanto no se liberan los productos que, en este caso, desencadenan la inflamación.

La especificidad entre enzima y sustrato es muy alta: la enzima está dispuesta a aceptar solamente una clase particular de sustancias que contengan ciertos grupos químicos específicos. La enzima reconoce su sustrato y rechaza, en la gran mayoría de los casos, otras sustancias: es como si quisiéramos atornillar una bombilla cuyo paso de la rosca es demasiado grande o pequeño con respecto al soporte de la lámpara, poner un enchufe americano en una toma europea o abrir una puerta con la llave equivocada.

Centrémonos en el ejemplo de la llave y la cerradura. Por ejemplo, cuando ponemos la llave correcta en la cerradura, la abrimos, retiramos la llave y la cerradura vuelve a estar disponible para dar cabida a la llave otra vez. Así, la llave sería el sustrato sobre el cual actúa la enzima, que es la cerradura. Si todo funciona normalmente, la enzima hace su trabajo y la cerradura se abre. Si queremos bloquear la enzima, es decir, si queremos que la cerradura no se abra, tenemos dos posibilidades: modificar la cerradura o utilizar una llave muy similar a la correcta, de modo que se inserte en la cerradura y se quede bloqueada allí. En cualquiera de los dos casos, la llave original no podrá entrar. La

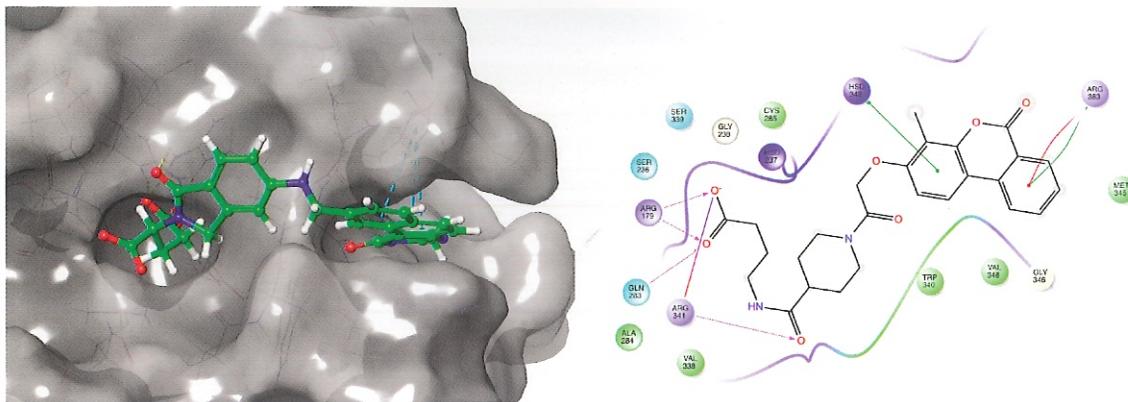


Figura 5. (Izquierda) pose de un compuesto en el sitio activo de una enzima con interacciones importantes mostradas con líneas punteadas. (Derecha) diagrama que describe de forma cualitativa las interacciones primordiales con el receptor en la pose de la izquierda.
Fuente: autores

aspirina funciona en el primer modo: cambia irreversiblemente la enzima transfiriéndole justo ese grupo acilo que Hoffmann “pegó” al compuesto natural del cual empezó. El resultado químico es que la enzima ya no es capaz de hacer su trabajo, que —en este caso— es acelerar el proceso inflamatorio y transferir la señal de dolor al cerebro. El resultado macroscópico es que se nos baja la fiebre y sentimos menos dolor.

La mayoría de los fármacos son moléculas pequeñas (llamados *inhibidores enzimáticos*) que compiten con el sustrato original por el sitio activo, ya que son muy similares a él, y bloquean la actividad de una enzima involucrada en una determinada enfermedad. En otras palabras, gracias a esta gran similitud, son capaces de “engañar” a la enzima que las deja entrar en su sitio activo. De la misma manera, los antibióticos funcionan mediante la inhibición de enzimas críticas para la vida de las bacterias: si bloqueamos estas enzimas, las bacterias mueren o ya no pueden reproducirse, y nosotros sanamos.

Y, ¿cómo hacemos para construir estas moléculas “disfrazadas”? ¿Al igual que Hoffmann, que trabajaba casi solo con su intuición? Afortunadamente, no. En el siglo pasado la química, tal vez más que otras ciencias, dejó cada vez más el campo del empirismo y de las “recetas” para convertirse en una disciplina más rigurosa y completa. En particular, ahora estamos en condiciones de saber qué enzimas están implicadas en muchos procesos relacionados con la aparición de enfermedades, y su estructura, en particular, la del sitio activo. Más aún, hemos elucidado la estructura de muchas de las moléculas que ocupan esos sitios activos. En otras palabras, conocemos la forma de la cerradura que debe bloquearse y la de su llave; lo que tenemos que hacer es construir una llave que sea capaz de entrar en la cerradura y quedarse allí inhibiendo la enzima.

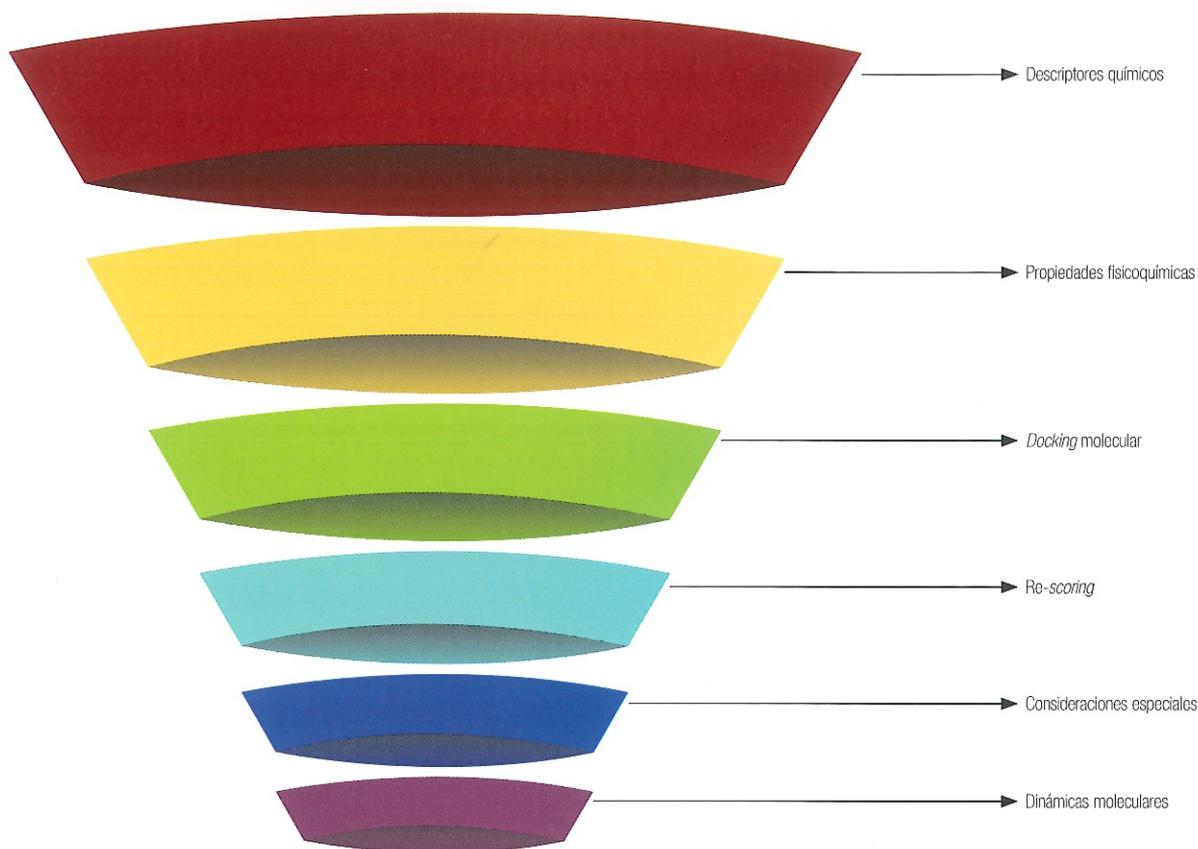
Desde hace algunos años, el proceso de búsqueda de fármacos se basa también en la química computacional, es decir, en mé-

todos que simulan las moléculas y sus interacciones químicas. La técnica de cálculo más utilizada en este campo es el *docking* molecular, literalmente, *anclaje molecular*. Como su nombre lo indica, esta técnica ayuda a identificar moléculas que sean capaces de “anclarse” en el sitio activo de la enzima, y por lo tanto ser potenciales fármacos.

El *docking* molecular es una técnica que busca responder dos preguntas: 1) ¿cómo encaja una determinada molécula en cierta región del espacio?, y 2) ¿qué tan bien lo hace? La primera se responde al intentar introducir la molécula, llamada ligando, en el sitio activo de la enzima, mientras que la segunda se contesta evaluando una función matemática, llamada función de *scoring*, que cuantifica la fuerza de interacción de dicha molécula con la enzima.

Este es un proceso iterativo en el que, para responder cómo encaja esta molécula en el sitio activo de la enzima, se cambia tanto la disposición espacial de la molécula como las posiciones relativas de los átomos al girar sus enlaces. Es decir, se realiza una búsqueda conformacional que permite tener el mayor número de interacciones posibles entre la enzima y el sustrato. Además, para conocer qué tan bien lo hace, se evalúa la afinidad según la función de *scoring*. Para cada pose de una molécula se obtiene un valor para esta función, y entre más pequeño sea este, más favorable se considera la interacción con la enzima. Estas funciones incluyen términos que permiten calcular las fuerzas eléctricas, las de Van der Waals, los puentes de hidrógeno y los contactos lipofílicos —entre otros— entre los átomos del compuesto y los átomos de la enzima. Con esto en mente también es posible realizar diagramas que muestren, de forma cualitativa, las interacciones dominantes entre estos compuestos y la enzima como aquel mostrado en la figura 5.

El proceso finaliza una vez el sistema no es capaz de encontrar una diferencia de energía significativa con respecto a las demás conformaciones. Así, tras evaluar varias estructuras en la búsqueda



Candidatos a pruebas *in vitro*

Figura 6. Diagrama de flujo de una campaña de *virtual screening*.
Fuente: autores

conformacional, se guarda únicamente la pose de cada sustrato con la mejor interacción con la enzima. Así, estas funciones tienen una gran ventaja, y es que son rápidas de evaluar, por lo que se pueden usar en poco tiempo para varias poses de varios ligandos.

Actualmente existen varios programas para llevar a cabo el *docking* molecular; existen algunos *softwares* libres, como DOCK, Hex y Slide, y otros propietarios, como Glide, FlexX y Gold. La principal diferencia entre estos programas son los algoritmos con los que se lleva a cabo la búsqueda conformacional y la función de *scoring* usada.

Para usar el *docking* molecular se necesitan dos cosas: primero, una enzima con un sitio activo conocido y cuya inhibición se sepa que puede curar o aliviar una enfermedad, y segundo, una librería digital de compuestos, cuya afinidad con la enzima es desconocida. Esta librería puede provenir de internet, de industrias farmacéuticas o se puede construir manualmente. Su tamaño varía dependiendo de los recursos computacionales a los que se tenga acceso, pero puede ser de hasta cientos de miles o millones de moléculas distintas.

La aplicación del protocolo de *docking* molecular para evaluar la afinidad de este gran número de moléculas hacia el sitio activo de una enzima se llama *virtual screening*. Esta afinidad está directamente relacionada con el posible poder inhibitorio. Por lo tanto, los compuestos que resultan tener una mayor energía de interacción tienen buenas posibilidades de ser inhibidores enzimáticos y volverse fármacos para contrarrestar una determinada enfermedad asociada a la acción de la enzima. Más aún, para reducir la cantidad de moléculas a las cuales se les aplicará el protocolo de *docking* se pueden usar algunos filtros preliminares, como se ilustra en la figura 6. El propósito de estos filtros es descartar las moléculas que, debido a sus propiedades o características, se sabe *a priori* que difícilmente actuarán como inhibidores. Algunos filtros populares incluyen el peso molecular, el número de donores y aceptores de puentes de hidrógeno, el número de enlaces de libre rotación y polaridad.

Al final del proceso se obtiene un *ranking* de afinidad de moléculas hacia la enzima con base en los valores numéricos obtenidos de la función de *scoring*. Aunque estos valores no suelen ser muy exactos con respecto a valores experimentales, el *virtual*

screening es un buen primer filtro para discriminar aquellas moléculas que podrían actuar como inhibidores (compuestos activos) de aquellas que no lo harán (compuestos inactivos). Por esta razón sería incorrecto afirmar que el compuesto con el mejor valor en la función de *scoring* será el mejor inhibidor. No obstante, es posible afirmar que en el primer 10% del *ranking* se encuentran compuestos potencialmente activos. Esto ya aumenta la posibilidad de encontrar un nuevo fármaco por un factor de 10. Para seguir aumentando la probabilidad de éxito se puede recurrir a métodos más exactos. Como es de esperarse, estos métodos son más exigentes a nivel computacional, por lo que no se pueden usar con la totalidad de la librería inicial. Estos procedimientos incluyen funciones de *scoring* más exactas, dinámicas moleculares (MD), cálculos de mecánica cuántica (QM) o híbridos de QM con mecánica molecular (QM/MM).

En última instancia, mientras que el uso de métodos experimentales permite examinar relativamente pocas moléculas para evaluar su poder inhibitorio, con los métodos computacionales el número de compuestos que es posible tomar en cuenta es enorme. Esto aumenta la probabilidad de éxito en el momento de hacer pruebas experimentales de los candidatos propuestos, además que reduce significativamente los costos que estas pruebas representan. Los dos enfoques son complementarios, y la mejor estrategia es un continuo diálogo para obtener una visión más completa del problema.

Afortunadamente, con respecto a esa noche de verano de hace más de cien años, las herramientas a nuestra disposición para derrotar las enfermedades son mejores y más numerosas, pero una cosa ha permanecido absolutamente igual: el encanto de la exploración científica. ●

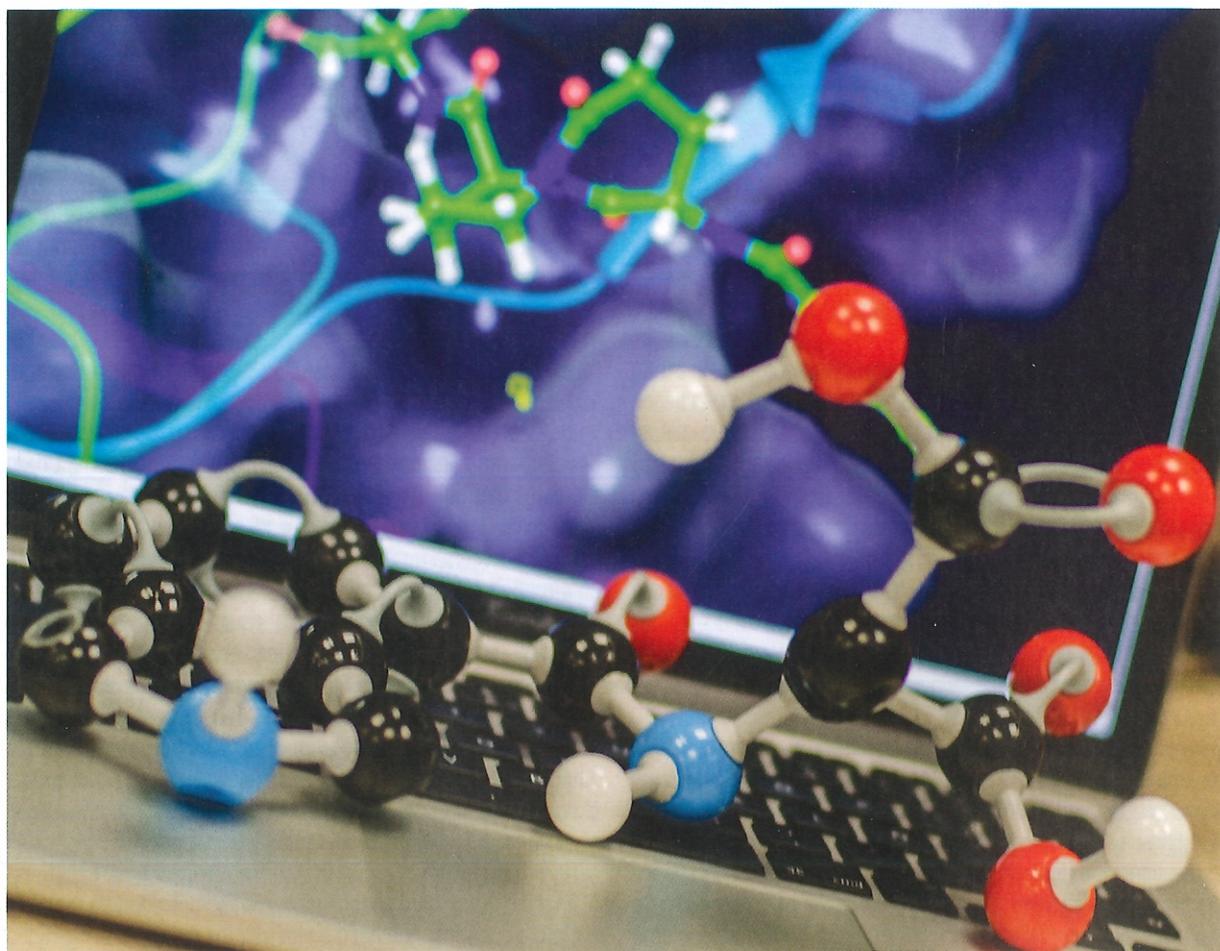


Figura 7.
Fuente: Carlos Ramos Guzmán

REFERENCIAS

- [1] Lodola A, De Vivo M. The increasing role of QM/MM in drug discovery. *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology* 2012; 87: 337-362.
- [2] Sobolewski C, Cerella C, Dicato M, Ghibelli L, Diederich M. The role of cyclooxygenase-2 in cell proliferation and cell death in human malignancies. *International Journal of Cell Biology* 2010; (1687-8876): 215158.
- [3] Ferreira L, dos Santos R, Oliva G, Andricopulo A. Molecular docking and structure-based drug design strategies. *Molecules* 2015; 20(7): 13384-13421.
- [4] Bottegoni G, Rocchia W, Rueda M, Abagyan R, Cavalli A. Systematic exploitation of multiple receptor conformations for virtual ligand screening. *PLoS ONE* 2011; 6(5): e18845.
- [5] Kitchen DB, Decornez H, Furr JR, Bajorath J. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: Methods and applications. *Nature Reviews Drug Discovery* 2004; 3(11): 935-949.
- [6] Solomon KA. *Molecular modelling and drug design*. Chennai: MJP Publishers; 2008.
- [7] Leach AR. *Molecular modelling: Principles and applications*. Harlow: Pearson Education Limited; 2001.
- [8] Friesner RA, Banks JL, Murphy RB, Halgren TA, Klicic JJ, Mainz DT et al. Glide: A new approach for rapid, accurate docking and scoring. 1. Method and assessment of docking accuracy. *Journal of Medicinal Chemistry* 2004; 47(7): 1739-1749.
- [9] Lioyta E, Spyrou G, Vassilatis DK, Cournia Z. Structure-based virtual screening for drug discovery: principles, applications and recent advances. *Current Topics in Medicinal Chemistry* 2014; 14(16): 1923-1938.
- [10] Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2012; 64(1-3): 4-17.
- [11] Guimarães CRW, Cardozo M. MM-GB/SA rescoring of docking poses in structure-based lead optimization. *Journal of Chemical Information and Modeling* 2008; 48(5): 958-970.
- [12] De Vivo M, Masetti M, Bottegoni G, Cavalli A. Role of molecular dynamics and related methods in drug discovery. *Journal of Medicinal Chemistry* 2016; 59(9): 4035-4061.