

*Goodman
& Gilman*

Las Bases
Farmacológicas
de la
TERAPÉUTICA

14^a EDICIÓN

LAURENCE L. BRUNTON
BJÖRN C. KNOLLMANN

Mc
Graw
Hill

Capítulo

Descubrimiento de fármacos: de las plantas medicinales al diseño de fármacos asistido por computadora

Michael K. Gilson; Laurence L. Brunton

DESDE PLANTAS MEDICINALES HASTA DISEÑO DE FÁRMACOS ASISTIDO POR COMPUTADORA

- Experiencias iniciales con plantas
- ¿Descubrimiento o invención de fármacos?
- Identificación del objetivo farmacológico
- Validación de objetivos
- Objetivo farmacológico para una molécula con potencial terapéutico
- Más allá de los objetivos farmacológicos de proteína única
- Unión de proteínas y fármacos: Afinidad y regulación alostérica

ENFOQUES EXPERIMENTALES PARA EL DESCUBRIMIENTO DE FÁRMACOS

- Química farmacológica
- Detección de alto rendimiento (HTS, *high-throughput screening*)
- Descubrimiento de fármacos basado en fragmentos
- Tecnologías experimentales emergentes

DESCUBRIMIENTO DE FÁRMACOS ASISTIDO POR COMPUTADORA

- Uso de la similitud química para descubrir ligandos dirigidos
- Diseño del fármaco basado en la estructura
- Inteligencia artificial en el descubrimiento de fármacos

DISEÑO DE MOLÉCULAS GRANDES COMO FÁRMACOS: EL AUMENTO DE LOS BIOFARMACÉUTICOS

SOLICITUD DE NUEVOS FÁRMACOS EN FASE DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA

ESTUDIOS CLÍNICOS

- Participación de la FDA
- La realización de estudios clínicos
- Determinación de "seguridad" y "eficacia"

MEDICINA PERSONALIZADA (INDIVIDUALIZADA, DE PRECISIÓN)

CONSIDERACIONES DE POLÍTICA PÚBLICA

- La industria farmacéutica opera en una economía capitalista
- ¿Quién paga?
- Propiedad intelectual y patentes
- Ley Bayh-Dole
- Fármacos biosimilares
- Publicidad de fármacos
- Preocupaciones sobre la injusticia global
- Responsabilidad por los productos
- "Fármacos de copia" frente a la verdadera innovación: El desarrollo de nuevos fármacos

La primera edición de la obra de Goodman & Gilman, publicada en 1941, ayudó a organizar el campo de la farmacología, dándole validez intelectual y una identidad académica. Esa edición comenzó de la siguiente manera: "El tema de la farmacología es amplio; abarca el conocimiento de los orígenes, propiedades físicas y químicas, compuestos, acciones fisiológicas, absorción, distribución, excreción y usos terapéuticos de los fármacos. Un fármaco puede definirse en términos generales como cualquier sustancia química que afecte el protoplasma de organismos vivos y pocas sustancias escaparían a la inclusión bajo esta definición". En la práctica, un agente químico o biológico se considera un fármaco legal solo si ha sido aprobado como tal por una agencia reguladora nacional, como la *U.S. Food and Drug Administration* (FDA) o la *European Medicines Agency*; estos compuestos aprobados son el objeto de estudio de esta obra.

Los primeros nueve capítulos de este libro, *Principios Generales*, proporcionan los fundamentos para las definiciones de farmacología y fármacos al explorar los mecanismos fisiológicos, bioquímicos y moleculares de la acción de los medicamentos. Esta sección revisa la invención, desarrollo y regulación de los fármacos, así como la forma en que estos actúan en los sistemas biológicos, es decir, la *farmacodinámica*, *farmacocinética* (incluido el transporte y el metabolismo de fármacos), la *influencia del microbioma gastrointestinal y la farmacogenética*, con breves revisiones sobre *farmacovigilancia*, *toxicidad* e *intoxicación de los medicamentos*. Las secciones subsiguientes tratan sobre el uso de clases específicas de fármacos como agentes terapéuticos en seres humanos. Este capítulo es una introducción a los productos farmacéuticos, su desarrollo y las actividades de la industria farmacéutica y el gobierno en torno al descubrimiento, producción y uso de agentes terapéuticos. Los procesos de descubrimiento e invención de fármacos han cambiado de manera sustancial con el progreso general de las ciencias biomédicas, la llegada y mejora del diseño de fármacos asistido por computadora y los avances técnicos en bioquímica y biología molecular. A continuación se revisan algunas de estas mejoras tecnológicas.

Desde plantas medicinales hasta diseño de fármacos asistido por computadora

Experiencias iniciales con plantas

La fascinación humana (y en ocasiones la obsesión) con los productos químicos que alteran la función biológica es antigua y comienza con la gran experiencia con las plantas y dependencia de estas. Como la mayor parte de las plantas están sujetas por sus raíces, muchas producen compuestos de defensa que los animales aprenden a evitar y que los seres humanos pueden aprender a utilizar. Así, el prior de un convento árabe apreció el café (cafeína) después de notar el comportamiento de las cabras que brincaban y jugueteaban toda la noche luego de comer las bayas de la planta del café; las mujeres trataron de realzar su belleza usando un extracto de la belladona, una planta mortífera, *Atropa belladonna* ("señora hermosa"), que contiene abundante *atropina*, la cual produce dilatación pupilar; la hierba china *ma huang* (*efedrina*) se utilizó como estimulante; los pueblos indígenas de América del Sur utilizaron el *curare* para paralizar y matar animales a los que cazaban para alimentarse y el jugo de la amapola (opio), que contiene *morfina* (del griego *Morpheus*, el dios de los sueños), se ha utilizado durante mucho tiempo para aliviar el dolor y para el control de la diarrea. La *morfina* posee propiedades adictivas bien conocidas, al igual que otros productos naturales psicoactivos, como la nicotina, la cocaína y el etanol. Téngase en cuenta que estos compuestos no se derivan de la búsqueda ni del conocimiento previo de un objetivo farmacológico. Más bien, el descubrimiento de fármacos en el pasado a menudo era el resultado de observaciones fortuitas de los efectos de extractos de plantas o sustancias químicas individuales en animales o en seres humanos. Los medicamentos fueron seleccionados con base en el efecto, sin comprender el mecanismo de acción que conocemos hoy en día. En el siglo xx, la búsqueda de productos naturales

Abreviaturas

ADME: absorción, distribución, metabolismo y excreción
 BLA: solicitud de licencia para productos biológicos
 CADD: descubrimiento de fármacos asistido por computadora
 SUPR: biblioteca de compuestos codificados con DNA
 DHHS: U.S. Department of Health and Human Services
 DMPK: metabolismo y farmacocinética de fármacos
 FBDD: descubrimiento de fármacos basado en fragmentos
 FDA: U.S. Food and Drug Administration
 GPU: unidad de procesamiento de gráficos
 VHC: Virus de la hepatitis C
 HDL: lipoproteínas de alta densidad
 HMG-CoA: 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A
 HTS: detección de alto rendimiento
 IND: nuevo fármaco en fase de investigación clínica
 LDL: lipoproteína de baja densidad
 mRNA: RNA mensajero
 NDA: solicitud para un nuevo fármaco
 NIH: National Institutes of Health
 NME: moléculas nuevas
 PDUFA: Prescription Drug User Fee Act
 SBDD: diseño de fármacos basado en estructuras
 siRNA: RNA pequeño de interferencia

se amplió, impulsado en parte por el descubrimiento de antibióticos, como la penicilina y las cefalosporinas, que los hongos y bacterias producen para competir entre ellos.

¿Descubrimiento o invención de fármacos?

La frase *descubrimiento de fármacos* tiene sentido para los compuestos terapéuticos obtenidos de plantas y otros organismos. Sin embargo, hoy en día solo una fracción de los nuevos fármacos introducidos cada año se descubre en la naturaleza. En su lugar, la mayor parte de los fármacos no se descubren, sino que son compuestos totalmente nuevos, optimizados de forma cuidadosa tomando en consideración muchos criterios a través de una interacción entre diseño y experimentación. En ese sentido, los nuevos fármacos de hoy son más inventados que descubiertos.

El modelo actual para el desarrollo de fármacos nació de la química orgánica sintética, que surgió en la industria de los tintes a finales del siglo XIX y ha continuado floreciendo. Los tintes son compuestos de colores con afinidad selectiva entre los diferentes tejidos biológicos. El estudio de estas interacciones estimuló a Paul Ehrlich a postular la existencia de receptores químicos en los tejidos que interactuaban con los tintes y los "fijaban". De manera similar, Ehrlich pensó que receptores singulares en los microorganismos o parásitos podrían reaccionar de forma específica con ciertos tintes y que tal selectividad podría respetar tejidos sanos. La obra de Ehrlich culminó con la invención de la *arsenamina* en 1907, patentada como "*Salvarsán*", lo que sugiere la esperanza de que el producto químico sería la salvación de la Humanidad. Este y otros compuestos orgánicos derivados del arsénico se utilizaron para tratar la sífilis hasta el descubrimiento de la penicilina. Gerhard Domagk demostró que otro tinte, *prontosil* (la primera sulfonamida con utilidad clínica), era notablemente eficaz en el tratamiento de infecciones estreptocócicas, dando inicio de esta manera a la quimioterapia antimicrobiana. La colaboración de la farmacología con la química por un lado y la medicina clínica por el otro ha sido un factor importante que ha contribuido al tratamiento eficaz de las enfermedades, en especial desde mediados del siglo XX.

Desde el principio, los nuevos compuestos podían ser probados por sus actividades solo en organismos enteros. Por ejemplo, de esta forma se descubrió la *indometacina*, un fármaco antiinflamatorio no esteroideo (Brune y Hinz, 2004). En los últimos 70 años, los investigadores han comenzado a entender con mayor detalle los mecanismos celulares y moleculares de las enfermedades. Como resultado de esta investigación biomédica básica, es posible realizar pruebas iniciales de compuestos *in vitro*, utilizando estudios celulares y moleculares.

Por ejemplo, podrían buscarse las respuestas celulares que ocurren como consecuencia de la inhibición de una proteína involucrada en un proceso patológico. En este escenario, probando bastantes compuestos elegidos en forma apropiada, podría desarrollarse por lo menos una comprensión parcial sobre qué tipos de compuestos tienen mayor probabilidad de ser activos y entonces utilizar esta información para dirigir un programa para su síntesis química y pruebas hacia compuestos cada vez más potentes.

En el decenio de 1980, se hizo práctico determinar estructuras tridimensionales de alta resolución de moléculas orgánicas complejas e incluso moléculas más grandes como las proteínas, utilizando y refinando las técnicas de cristalografía de rayos X iniciadas por Hodgkin, Kendrew y Perutz a mediados del siglo XX. Ya se sabía que muchos fármacos actuaban al unirse estrechamente a una proteína relacionada con la enfermedad y al modular de esta forma su función biológica (p. ej., mediante inhibición o activación), pero los detalles atómicos de estas interacciones continuaban siendo un misterio. Como consecuencia, la única manera de avanzar en un proyecto de descubrimiento de fármacos había sido sintetizando y probando un compuesto tras otro. Ahora, al contar con la estructura tridimensional de las proteínas, sería de esperarse que pudiera diseñarse un compuesto que se uniera con afinidad alta a una cavidad de la proteína de interés, en la que ajustaría casi a la perfección, por ejemplo, en el sitio activo de una enzima. Por lo tanto, la cristalografía de proteínas permitió el *diseño de fármacos basados en estructuras* (SBDD, *structure-based drug design*), donde la estructura tridimensional del objetivo del fármaco se utiliza para guiar la creación de compuestos que se unan en forma estrecha, a menudo denominados *ligandos*.

Casi al mismo tiempo, dio inicio el avance rápido de la tecnología informática. Esto aceleró el procesamiento de datos necesario para pasar de patrones de difracción de rayos X a estructuras de proteínas (es decir, coordenadas atómicas tridimensionales) y permitió la visualización interactiva de estructuras de proteínas complejas formadas por miles de átomos. También abrió nuevas perspectivas en el *descubrimiento de fármacos asistido por computadora* (CADD, *computer-aided drug discovery*), lo que incluye el uso de simulaciones moleculares para modelar las interacciones físicas de compuestos y proteínas y el desarrollo de herramientas para codificar, archivar, compartir y analizar datos químicos y farmacológicos. En paralelo, la automatización y la miniaturización han aumentado en forma notable el rendimiento experimental, en especial mediante la *detección robótica de alto desempeño* (HTS, *high-throughput screening*), en el que se pueden probar con rapidez cientos de miles de compuestos con un costo relativamente bajo en análisis de actividad celular o molecular. Hoy en día, el entusiasmo por el poder de la inteligencia artificial motiva esfuerzos de amplio alcance para aplicar estas tecnologías al descubrimiento de fármacos.

La siguiente sección trata con mayor detalle el proceso de descubrimiento de fármacos, centrándose en los llamados *fármacos de moléculas pequeñas*, compuestos orgánicos con pesos moleculares normalmente inferiores a 500 Da, que tradicionalmente han sido el tipo de fármaco más común. En las secciones siguientes se mencionan fármacos biológicos, como anticuerpos y otras biomoléculas de diseño.

Identificación del objetivo farmacológico

Hoy en día, la mayor parte de los proyectos de descubrimiento de fármacos de moléculas pequeñas surgen de investigaciones básicas que implican una macromolécula específica, por lo general una proteína, como un participante clave en una enfermedad y además, sugiere que una molécula pequeña que se une a esta macromolécula podría utilizarse para el tratamiento de la enfermedad. La macromolécula se convierte así en un *posible objetivo farmacológico*. Muchos fármacos de moléculas pequeñas son inhibidores (antagonistas) que actúan reduciendo la actividad de su objetivo farmacológico macromolecular. Los ejemplos incluyen las estatinas, que reducen la síntesis de colesterol al unirse e inhibir la enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A reductasa (HMG-CoA), y los antibióticos β -lactámicos, que destruyen las bacterias al inhibir las enzimas que participan en la síntesis de las paredes celulares bacterianas. Sin embargo, algunas moléculas pequeñas son activadoras (agonistas) más que inhibidoras. Los fármacos activadores suelen dirigirse a proteínas cuya función normal implica la señalización

celular, como los receptores hormonales. Por ejemplo, el fármaco para el asma *salmeterol* produce broncodilatación mediante la unión y activación de los receptores β -adrenérgicos en el músculo liso bronquial, con lo que imita el efecto de la *adrenalina* (*epinefrina*; cap. 10).

Se han identificado objetivos farmacológicos de muchas maneras posibles (Hughes *et al.*, 2011). Por ejemplo, se desconocía sobre cuáles enzimas actuaban los antibióticos β -lactámicos y fueron descubiertas precisamente porque estas enzimas se encuentran unidas por estos antibióticos naturales. Por el contrario, el objetivo farmacológico de las estatinas, la HMG-CoA reductasa, se identificó por la identificación de las vías de síntesis del colesterol (Tobert, 2003) y esta información se utilizó para ayudar a descubrir las primeras estatinas. De la misma forma, a medida que los investigadores han determinado las funciones reguladoras de las proteínas cinasas humanas (enzimas que modifican la actividad de otras proteínas mediante la unión covalente de grupos fosforados a sus cadenas laterales, que contienen grupos hidroxilo), se han dirigido cinasas específicas para el desarrollo de fármacos de moléculas pequeñas (Cohen *et al.*, 2021). Muchos inhibidores de cinasa son fármacos anticancerosos que actúan al inhibir las proteínas cinasas que aceleran la proliferación celular. Algunas de estas cinasas dirigidas llevan mutaciones anormales asociadas con cáncer que las hacen hiperactivas, por lo que su inhibición devuelve sus actividades reguladoras a la normalidad. El ejemplo pionero de este escenario es el fármaco *imatinib*, que inhibe una proteína cinasa mutante asociada al cáncer, la tirosina cinasa Bcr-Abl, la cual se utiliza para el tratamiento de la leucemia mieloide crónica (Buchdunger *et al.*, 2002).

En los últimos años, los avances tecnológicos que permiten la experimentación genómica han abierto nuevos métodos para la identificación de posibles objetivos farmacológicos (Lindsay, 2003; Paananen y Fortino, 2020). La secuenciación rápida y de bajo costo del genoma facilita la realización de estudios de asociación genómica, en los que las variaciones en la susceptibilidad a una enfermedad se correlacionan con alteraciones en genes específicos; esto conduce a sugerencias para la elaboración de productos genéticos (p. ej., proteínas), que pueden ser objetivos farmacológicos adecuados. La creciente disponibilidad de datos genómicos de los pacientes en el contexto del expediente clínico electrónico probablemente abrirá nuevas oportunidades para el análisis de datos que apoyen el descubrimiento de objetivos farmacológicos en los próximos años. También se ha vuelto habitual medir las cantidades de ácido ribonucleico mensajero (mRNA, *messenger ribonucleic acid*) transcritas a partir de miles de genes en forma simultánea (el *transcriptoma*) y cuantificar miles de proteínas traducidas (*proteómica*). Al comparar tales datos entre, por ejemplo, células cancerosas y células normales, se pueden identificar proteínas transcritas o presentes en concentraciones altas o disminuidas en un estado patológico. El análisis de datos (*mining data*) sobre estas proteínas obtenidas de fuentes como bases de datos biomédicos, artículos científicos y patentes y su integración con los datos de la proteómica pueden sugerir ciertas proteínas como posibles objetivos farmacológicos.

Un método totalmente diferente comienza con el uso de instrumentación y robótica de alto rendimiento para analizar una gran cantidad de moléculas pequeñas (una *biblioteca química*) para la actividad biológica en una *detección fenotípica* (Swinney y Lee, 2020), que podría utilizar microscopía automatizada y análisis de imágenes para determinar qué compuestos producen los efectos biológicos deseados, como la activación de un gen específico en células humanas cultivadas o la muerte de un microorganismo parásito en cultivos. Se pueden utilizar varios métodos para el *análisis inverso* (es decir, para determinar cómo funcionan las moléculas pequeñas activas). Por ejemplo, se identificaron posibles objetivos farmacológicos de compuestos que destruían al parásito del paludismo *Plasmodium falciparum* cultivando estos organismos en concentraciones cada vez mayores del compuesto para seleccionar protozoarios resistentes y luego usando métodos de genómica y proteómica para determinar qué genes eran diferentes. Las proteínas codificadas por estos genes pueden convertirse en posibles objetivos farmacológicos (Flannery *et al.*, 2013).

Validación de objetivos

Después de que se ha identificado un objetivo farmacológico para una molécula con potencial terapéutico, se justifica realizar investigaciones

adicionales para *validarlo* buscando pruebas más sólidas de que una molécula pequeña que se une y modula tratará realmente la enfermedad (Jones, 2016; Lansdowne, 2018; véase el recuadro 1-1). Por ejemplo, el hecho de que una proteína sea más abundante en las células cancerosas que las células normales no demuestra de ninguna manera que sea un objetivo farmacológico adecuado. En cambio, esto podría ser una correlación más que una causa, por lo que se necesitan más investigaciones para identificar cuál es su participación. En consecuencia, con la *validación de objetivos farmacológicos* tiene como meta “reducir el riesgo” de un proyecto al disminuir la probabilidad de que un compuesto cuidadosamente desarrollado para actuar sobre la proteína que representa el objetivo farmacológico fracase en los estudios clínicos, ya sea porque alcanzar el objetivo farmacológico no influya en la enfermedad como se esperaba o porque el compuesto genera toxicidad no anticipada, lo que se conoce como *toxicidad en el objetivo farmacológico o basada en su mecanismo*.

No existen criterios absolutos para la validación de objetivos farmacológicos ni existe un único método. Un método consiste en utilizar una *sonda química*, una molécula pequeña que se une al objetivo farmacológico y a continuación estudiar sus efectos biológicos (Quinlan y Brennan, 2021). Este método requiere que dicha sonda esté disponible y los campos de la genética química (Stockwell, 2000) y la *quimiogenómica* (Bredel y Jacoby, 2004) tienen como objetivo crear sondas químicas selectivas para tantas proteínas del genoma humano como sea posible. Otro método consiste en realizar desactivación genética a través de un RNA pequeño de interferencia (siRNA, *small interfering RNA*) para bloquear la producción de la proteína que representa el objetivo farmacológico, imitando así el efecto de un inhibidor de la actividad de la proteína. A veces se puede obtener información adicional sobre la función biológica de una molécula con potencial terapéutico estudiando ratones modificados genéticamente, incluidos los *ratones con inactivación génica*, en los que se ha desactivado por completo la codificación genética para el objetivo farmacológico, y en *ratones transgénicos*, en los que la expresión del gen estudiado se coloca bajo el control de un promotor que puede activarse alimentando a los animales con un compuesto específico, como la *tetraciclina* (Lindsay, 2003).

Objetivo farmacológico para una molécula con potencial terapéutico

Es importante saber si el posible objetivo farmacológico es susceptible de interactuar con una molécula con potencial terapéutico. Es decir, si puede, en principio, unirse a una molécula pequeña con suficiente afinidad. Si la proteína ha sido objeto de un esfuerzo previo de descubrimiento de fármacos, puede encontrarse información de la unión a moléculas pequeñas en una base de datos pública, como BindingDB (Gilson *et al.*, 2016), PubChem (Kim *et al.*, 2021) o ChEMBL (Gaulton *et al.*, 2012) o en un artículo o patente cuyos datos aún no han sido incluidos en estas bases de datos. También se puede comprobar el *Protein Data Bank* (Berman *et al.*, 2000; Berman y Gierasch, 2021) para conocer la estructura por cristalografía del compuesto estudiado, lo que puede ayudar a localizar una cavidad de unión adecuada para

RECUADRO 1-1 ■ Validación del objetivo farmacológico: La lección de la leptina

Los sistemas biológicos suelen contener elementos redundantes o pueden alterar la expresión de elementos regulados por medicamentos para compensar el efecto farmacológico. En general, cuanto más importante es la función, mayor es la complejidad del sistema. Por ejemplo, muchos mecanismos controlan la alimentación y el apetito, por ello ha sido difícil encontrar fármacos para controlar la obesidad. El descubrimiento de la hormona leptina, que suprime el apetito, se basó en mutaciones en ratones que causan pérdida de la leptina o de su receptor; cualquier tipo de mutación ocasiona una gran obesidad tanto en ratones como en personas. Así, la leptina parecía ser una oportunidad maravillosa para tratar este padecimiento. Sin embargo, en la investigación, se descubrió que los individuos obesos tienen altas concentraciones circulantes de leptina y parecen insensibles a su acción.

la pequeña molécula que se va a desarrollar como fármaco. Esto es efectivo para las enzimas metabólicas y los receptores que han evolucionado para unirse a pequeñas moléculas de sustrato y transmisores. Muchas proteínas pertenecen a familias, tales como las proteína cinasas, cuyos miembros tienen propiedades similares (p. ej., una cavidad de unión de ATP), de modo que si un miembro de una familia es susceptible de convertirse en una molécula con potencial terapéutico, entonces es muy probable que los otros también lo sean. Por el contrario, los receptores de las proteínas a menudo tienen grandes superficies de unión relativamente planas, en lugar de pequeñas cavidades para la unión adecuada de fármacos de molécula pequeña; por lo tanto, son menos propensos a convertirse en un objetivo farmacológico. Se están realizando esfuerzos para investigar de forma sistemática todos los objetivos farmacológicos codificados en el genoma humano que pudieran interactuar con una molécula con potencial terapéutico (Nguyen *et al.*, 2017; Finan *et al.*, 2017; Hopkins y Groom, 2002) y para obtener mejor información sobre sitios que antes se consideraban no susceptibles de ser utilizados como posibles objetivos terapéuticos (Dang *et al.*, 2017).

La validación final de un posible objetivo farmacológico es el desarrollo exitoso de un fármaco nuevo que funciona al interactuar con él. Ese fármaco novedoso se denomina *primero en su clase*. Un fármaco de este tipo es una verdadera innovación y puede representar un avance médico, por lo que podría esperarse que cada proyecto de investigación de fármacos busque una molécula que sea la *primera en su clase*. De hecho, las empresas farmacéuticas suelen participar en proyectos menos innovadores y más predecibles mediante el desarrollo de la *imitación de fármacos* contra objetivos farmacológicos que ya están plenamente validados por un fármaco primero en su clase. Tales proyectos tienen como objetivo mejorar el fármaco primero en su clase a través, por ejemplo, de una mayor potencia, menos efectos secundarios o una dosificación más conveniente (p. ej., fármaco oral en lugar de intravenoso) con la meta de llegar a producir un nuevo fármaco considerado el *mejor de su clase*. Por ejemplo, la lovastatina de Merck comenzó a funcionar como la primera estatina, la primera de una clase de fármacos que reducen el colesterol mediante la inhibición de la enzima HMG-CoA reductasa (cap. 37); pero otras estatinas, como la atorvastatina, también han logrado un enorme éxito comercial.

Más allá de los objetivos farmacológicos de proteína única

Una serie de fármacos, ya sea por accidente o por diseño, afectan a múltiples objetivos farmacológicos proteínicos, un fenómeno llamado *polifarmacología* (Peters, 2013). Este fenómeno es común cuando el objetivo farmacológico pertenece a una familia de proteínas con sitios de unión similares. Por ejemplo, el efecto fisiológico pleno de un antagonista adrenérgico está determinado por sus acciones en la familia de tipos y subtipos de receptores adrenérgicos. Del mismo modo, muchos inhibidores de la proteína cinasa inhiben múltiples cinasas, cada una de ellas en un grado diferente. Hay casos en los que actuar sobre varios objetivos farmacológicos resulta fructífero, como inhibir reacciones secuenciales en serie. La modulación de varias proteínas en una única vía bioquímica o red de señalización supera la redundancia de un sistema biológico robusto y, por lo tanto, conduce a una mayor eficacia en comparación con la modulación de una sola proteína. Un solo compuesto puede, alternativamente, actuar sobre dos objetivos farmacológicos completamente diferentes en vías diferentes, aunque esto es más difícil de lograr sin la creación de compuestos más grandes. El análisis de sistemas moleculares complejos en relación con la acción de los fármacos se denomina *farmacología de sistemas*.

La polifarmacología no siempre es beneficiosa; de hecho, puede conducir a efectos tóxicos. Algunos de los efectos no deseados de un fármaco se denominarán efectos adversos o incluso respuestas perjudiciales importantes a los fármacos. Por ejemplo, varios compuestos promotores en un inicio han demostrado unirse e inhibir hERG, un tipo de conducto de K^+ del corazón que media la repolarización (la corriente I_{Kr} ; véase el capítulo 34); la inhibición de hERG puede conducir a arritmias potencialmente letales. Por lo tanto, el conducto hERG se ha convertido en un objetivo farmacológico que debe evitarse de manera estricta en los proyectos relacionados con el descubrimiento de fármacos (Garrido *et al.*, 2020).

Algunos fármacos de moléculas pequeñas no se unen a las proteínas en lo absoluto. Por ejemplo, los fármacos antineoplásicos como platino, como el *carboplatino*, destruyen las células neoplásicas al unirse mediante enlaces covalentes al ácido desoxirribonucleico (DNA, *deoxyribonucleic acid*); los antibióticos aminoglucósidos bloquean la síntesis de proteínas bacterianas al unirse al RNA dentro del ribosoma bacteriano y los antivirales análogos de nucleósidos se incorporan al DNA viral en lugar de los nucleósidos normales y posteriormente bloquean su replicación. El medicamento *sugammadex* tiene un propósito y un mecanismo inusuales. Los pacientes quirúrgicos a menudo reciben anestesia general y *rocuronio*, un relajante neuromuscular no despolarizante que evita los movimientos involuntarios del músculo estriado durante los procedimientos quirúrgicos (cap. 13). El *sugammadex*, una molécula más grande, con forma de copa, se une y fija al *rocuronio*. Por lo tanto, la inyección de *sugammadex* reduce con rapidez la concentración de rocuronio libre en la sangre y revierte la parálisis cuando se completa un procedimiento.

Unión de proteínas y fármacos: Afinidad y regulación alostérica

Un fármaco exitoso con una proteína como objetivo farmacológico debe unirse a su objetivo con afinidad alta, de modo que incluso una pequeña dosis del fármaco producirá una concentración de sangre lo suficientemente alta como para unirse a una gran fracción de la proteína a la que va dirigida. Si la afinidad fuera baja, entonces sería necesaria una concentración alta del fármaco para que una fracción sustancial de los sitios del objetivo farmacológico se ocupen y sería necesario administrar una dosis elevada del fármaco, lo que se acompaña de inconvenientes y un riesgo creciente de efectos adversos. La afinidad de una molécula pequeña por una proteína por lo general se informa como la constante de disociación, es decir, la concentración de moléculas de fármaco libre en la solución en la que 50% de la proteína que representa el objetivo farmacológico se ha unido al fármaco; cuanto menor sea esta concentración, mayor será la afinidad (fig. 3-3). Los proyectos de diseño de fármacos suelen buscar una constante de disociación del orden de 10^{-9} mol/L (1 nM); un "fármaco nanomolar" de este tipo se suele dosificar en miligramos a gramos por día. Un fármaco exitoso también debe mostrar un alto grado de especificidad para la proteína sobre la que actuará, lo que significa que el fármaco no interactúa con otras proteínas que podrían conducir a efectos secundarios no deseados y toxicidad. En algunos casos, la eficacia de un fármaco puede verse influida no solo por la afinidad, sino también por las constantes de velocidad cinética de unión y disociación de fármacos y proteínas, que determinan el tiempo de permanencia del fármaco en su receptor (Copeland, 2016).

La mayor parte de los fármacos se unen a las proteínas objetivo a través de interacciones intermoleculares de atracción que no implican un enlace químico covalente. Estas interacciones no covalentes incluyen:

- Puentes de hidrógeno, en el cual un átomo electronegativo con un átomo de hidrógeno unido, como un grupo hidroxilo, comparte parcialmente su hidrógeno con un átomo electronegativo en la otra molécula
- Interacciones de atracción electrostática entre átomos de carga opuesta, tales como entre un ácido carboxílico con carga negativa que pertenece al fármaco y la cadena lateral de arginina de una proteína con carga positiva
- El efecto hidrófobo, en el cual partes no polares o "lipídicas" del fármaco y de la proteína se asocian entre sí para reducir su exposición energética desfavorable al agua, de la misma manera que las gotitas de aceite se fusionan en el aderezo para ensaladas
- Fuerzas de dispersión (la parte de atracción de las interacciones de van der Waals), que son interacciones de atracción de corto alcance entre los dipolos eléctricos instantáneos que resultan de las fluctuaciones constantes de nubes de electrones atómicos con carga negativa alrededor de núcleos atómicos con carga positiva

Estas fuerzas de atracción necesitan superar la tendencia entrópica del fármaco y la proteína a separarse, a causa de la energía térmica. De forma inevitable, también hay fuerzas que se oponen a la unión y que deben ser superadas por las fuerzas de atracción. Por ejemplo, existe

un mayor consumo de energía para la eliminación de agua de los grupos químicos polares del ligando y de la proteína a medida que se unen. Por lo tanto, la afinidad global de una interacción entre fármaco y proteína refleja un equilibrio delicado y difícil de predecir entre las interacciones de atracción y de repulsión.

Los fármacos de moléculas pequeñas no se unen a las superficies exteriores relativamente lisas de las proteínas a las que van dirigidas, sino que se pliegan al unirse a cavidades en la proteína (fig. 1–4). Esta disposición estructural hace posible formar las interacciones físicas extensas y de corto alcance que se necesitan para mantener estrechamente unidas dos moléculas. Las cavidades a las que se unen las moléculas con potencial terapéutico (es decir, las cavidades a las que se unen las moléculas pequeñas) suelen estar disponibles en enzimas cuyos sustratos son moléculas pequeñas y en receptores que se unen a hormonas de moléculas pequeñas y transmisores. Sin embargo, muchas proteínas carecen de una cavidad cóncava y por lo tanto es difícil o imposible la creación de fármacos de moléculas pequeñas. En tales casos, se puede considerar el desarrollo de una proteína terapéutica, por ejemplo, un anticuerpo de diseño que se dirija a la proteína de interés. Debido a que las proteínas son grandes, pueden formarse interacciones físicas extensas, de corto alcance, incluso con la superficie exterior relativamente plana de la proteína sobre la que se quiere actuar y, en consecuencia, pueden lograr una afinidad de unión adecuada donde un fármaco de molécula pequeña no podría. Estas consideraciones también ayudan a explicar por qué es difícil desarrollar un fármaco de molécula pequeña que bloquee una interacción entre proteínas: la unión entre proteínas implica por lo general un número grande de interacciones en una interfaz de unión relativamente plana entre las dos proteínas y una molécula pequeña no puede conseguir la fijación suficiente en una superficie con estas características.

Téngase en cuenta que un fármaco no solo debe unirse a su objetivo farmacológico, sino que también debe tener el efecto deseado sobre él. Si el objetivo es inhibir una enzima, entonces un fármaco que se una al sitio activo debe lograr esto con facilidad al bloquear la asociación de la enzima con las moléculas del sustrato. Por el contrario, cuando el objetivo farmacológico es un receptor de superficie celular, una molécula pequeña podría interactuar en el sitio agonista, pero sin inducir un cambio conformacional de activación y por lo tanto podría funcionar como un antagonista o agonista inverso (cap. 3). Un fármaco también puede inhibir la función de una proteína al unirse en una cavidad fuera del sitio activo, consecuentemente modificar la conformación tridimensional de la proteína sobre la que se quiere actuar; esto es un efecto alostérico. Tal fármaco no solo debe unirse en la cavidad adecuada, sino también inducir el cambio conformacional deseado. El *efavirenz* y la *nevirapina*, utilizadas en el tratamiento del VIH-sida, son inhibidores no nucleósidos de la transcriptasa inversa que actúan en forma alostérica para inhibir la transcripción del RNA a DNA víales (fig. 65–5). De manera similar, varios ligandos interactúan con sitios alostéricos en los receptores GABA_A (fig. 16–11) y otros receptores de asa de cistina (Cys) para modular la función del receptor y del conducto. La regulación alostérica también puede ofrecer una estrategia refinada para dirigir una sola enzima de una familia de enzimas similares. Así, al diseñar un fármaco, podría aprovecharse el hecho de que, incluso dentro de una familia de proteínas relacionadas con sitios activos similares, los miembros probablemente tendrán otras regiones de su estructura que son más variables y posiblemente únicas. Diseñar un ligando pequeño que se una a tal sitio podría producir un fármaco que sea un modificador alostérico bastante selectivo para la función enzimática. Este método se está utilizando para seleccionar las fosfatasa proteínicas (Mullard, 2018).

Unos pocos fármacos de moléculas pequeñas reaccionan químicamente con las proteínas sobre las que actúan formando *enlaces covalentes irreversibles*, en lugar de depender por completo de las atracciones no covalentes antes mencionadas. Tales fármacos con unión covalente se unen a un grupo químico específico de la proteína sobre la que actúan, a menudo una cadena lateral reactiva de aminoácidos en el sitio catalítico de una enzima. En principio, los fármacos con unión covalente deben requerir dosis más pequeñas y con menor frecuencia, porque un fármaco unido por enlace covalente no se disociará de la proteína a medida que la concentración de fármaco libre disminuya

con el paso del tiempo después de una dosis (pero téngase en cuenta que algunos compuestos que contienen boro forman *enlaces covalentes reversibles* [Díaz y Yudin, 2017]). Los desarrolladores de fármacos tienden a evitar los fármacos covalentes porque poseen grupos químicamente reactivos que corren el riesgo de reaccionar no solo con el objetivo deseado, sino también con otras proteínas y biomoléculas, con la posibilidad de causar efectos biológicos no deseados. Sin embargo, la selectividad se puede lograr por interacciones no covalentes específicas entre el fármaco y la proteína que desplazan el compuesto a una ubicación y conformación donde se prepara para formar el enlace covalente deseado.

El enlace covalente se ha utilizado para dirigir e inhibir con éxito a un miembro de la familia RAS GTPasa (KRAS G12C) que con anterioridad se consideraba como no susceptible de ser utilizado como objetivo terapéutico. Como resultado de tal posicionamiento dirigido, el fármaco antineoplásico *sotorasib* gana potencia y especificidad al formar un enlace covalente con una cadena lateral de cisteína presente en una forma mutante oncogénica de KRAS, pero no en el gen KRAS normal (Lanman *et al.*, 2020).

Enfoques experimentales para el descubrimiento de fármacos

Una vez identificado el objetivo farmacológico, el siguiente paso importante en un proyecto de descubrimiento de fármacos es el surgimiento de una *molécula con potencial terapéutico*, una molécula pequeña que se una con alta afinidad y especificidad al objetivo, que tiene el efecto deseado en él y cumple otros criterios para un fármaco seguro y eficaz (Hefti, 2008). Algunos de estos criterios se refieren a la *farmacocinética*: ¿Qué tan bien se absorberá el compuesto si se administra por vía oral? ¿Qué tan bien se distribuye a los órganos y tejidos en que ejercerá sus efectos? ¿Con qué rapidez y mediante qué mecanismos se elimina? ¿Se metaboliza en un metabolito activo? Estas propiedades a menudo se agrupan como absorción, distribución, metabolismo y excreción (ADME) o metabolismo y farmacocinética de fármacos (*DMPK, drug metabolism and pharmacokinetics*).

También es esencial confirmar que el compuesto no muestra toxicidad en las pruebas. Tanto la farmacocinética como la toxicidad pueden estudiarse en un inicio *in vitro*. Por ejemplo, existen *métodos in vitro* que examinan la facilidad con que el compuesto entra en las células (cap. 4) y la probabilidad de que las enzimas hepáticas (cap. 5) modifiquen la estructura química del compuesto. Los compuestos también se pueden estudiar *in vitro* en busca de evidencia de toxicidad y efectos mutágenos. Sin embargo, los *estudios in vitro* no pueden modelar completamente las complejidades de un organismo vivo; todavía son necesarios los estudios en animales para reducir las posibilidades de que un compuesto sea problemático cuando se administre por primera vez a seres humanos. Por ejemplo, la toxicidad suele valorarse mediante el seguimiento a largo plazo de la salud de dos especies de animales, por lo general un roedor (normalmente ratón) y un no roedor (a menudo un conejo), cuando se administra el compuesto. Una molécula con buen potencial terapéutico debe cumplir con algunos criterios no biológicos. En particular, debe ser compatible con síntesis a gran escala y purificación de alto grado a un costo aceptable y debe ser posible crear una presentación farmacéutica (p. ej., una tableta o una inyección) que sea suficientemente hidrosoluble y estable.

Se han desarrollado tecnologías refinadas para acelerar el proceso de generación de moléculas con potencial terapéutico clínico. Estos se centran en el descubrimiento o diseño de compuestos que se unen con alta afinidad (*ligandos fuertes*) a la proteína que representa el objetivo terapéutico. Se ha avanzado menos en el diseño de la seguridad y la farmacocinética favorable. Estas propiedades plantean desafíos más complejos, porque van mucho más allá de cómo una molécula pequeña y una proteína interactúan entre sí y en su lugar implican las interacciones de la molécula pequeña con miles de biomoléculas diferentes en un sistema vivo. Las tecnologías para el descubrimiento de ligandos son tanto experimentales como computacionales y en diferentes escenarios se aplican diferentes métodos. Las siguientes subsecciones se refieren a métodos amplios, pero no son integrales. Obsérvese también que varios acercamientos pueden ser usados en

8 forma combinada, así que las distinciones hechas aquí son en última instancia algo artificiales.

Química farmacológica

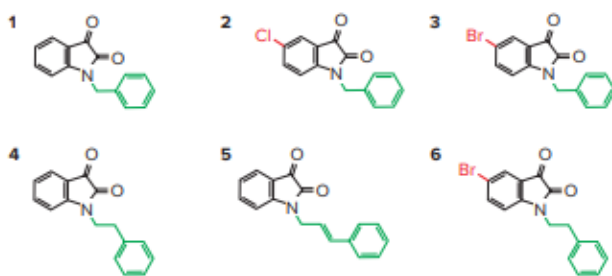
La química orgánica sintética permanece en el corazón del descubrimiento de fármacos de moléculas pequeñas, donde se especializa y se le conoce como química farmacológica. Los químicos farmacólogos suelen formar parte de un equipo de proyecto que incluye, entre otros, biólogos, especialistas en estudios clínicos y químicos computacionales; su papel es reducir los conceptos químicos a la práctica mediante la síntesis y purificación de compuestos que en última instancia pueden conducir a un nuevo fármaco. Además de proporcionar la experiencia necesaria para sintetizar compuestos de interés, también ayudan a guiar el diseño y la selección de los compuestos que se van a fabricar. Una consideración clave es la complejidad de la síntesis de un compuesto, o "accesibilidad sintética", que debe equilibrarse con el nivel de interés en el compuesto. Por ejemplo, puede ser difícil generar estereoisómeros puros de compuestos con múltiples átomos de carbono quiral y ciertas estructuras químicas pueden sintetizarse solo a través de complejas síntesis de múltiples pasos. Un compuesto que es demasiado difícil de hacer o purificar no solo hará más lento el esfuerzo de investigación, sino que también puede conducir a un fármaco que es demasiado costoso de fabricar.

Los químicos farmacólogos también informan sobre el proceso de diseño del fármaco proporcionando información sobre las propiedades de varios grupos químicos que podrían incorporarse a este, como las interacciones de atracción o de repulsión que pueden formarse con la proteína a la que va dirigido el fármaco, su susceptibilidad a los cambios metabólicos tras la administración, la posibilidad de formar de manera espontánea enlaces covalentes no deseados con biomoléculas y su influencia en la capacidad del compuesto para cruzar la barrera hematoencefálica (que puede ser deseable o indeseable, dependiendo del objetivo del proyecto). Esta experiencia entra en juego, por ejemplo, cuando un compuesto se une bien a su objetivo farmacológico, pero se metaboliza con rapidez por el hígado en un producto inactivo. En este contexto, el químico farmacólogo puede intentar sustituir la parte del compuesto que se metaboliza por un "bioisómero", un grupo químico diferente con una forma y capacidad similares para interactuar con la proteína, pero con menor susceptibilidad a la modificación metabólica. En términos generales, décadas de experiencia han llevado a la creación de una serie de reglas generales para lo que hace que un compuesto se "parezca a un fármaco" y que se conoce como la "regla de los cinco" (Lipinski, *et al.*, 2001). Estas pueden ser guías útiles durante los proyectos de descubrimiento de fármacos, pero también hay muchas excepciones a las reglas (Zhang *et al.*, 2007).

Detección de alto rendimiento (HTS, high-throughput screening)

Si no se sabe nada sobre la estructura de la proteína sobre la que se pretende actuar y qué pequeñas moléculas pueden unirse a ella, es común recurrir a la detección de alto rendimiento (HTS), en el que se analizan miles o millones de compuestos mediante automatización y robótica (Wildley *et al.*, 2017). Se extraen pequeñas muestras de cada compuesto de una biblioteca de productos químicos almacenada y se depositan en placas con capacidad para múltiples muestras para su análisis. A menudo se debe invertir un esfuerzo considerable para diseñar un estudio clínico que funcione de forma fiable en miniatura y sin la intervención del usuario. La mayor parte proporcionan una lectura óptica, como un cambio de luminiscencia, fluorescencia o color, ya que estos pueden medirse de forma eficaz con un lector óptico. Los compuestos examinados pueden variar desde parte de la vasta colección de compuestos internos que una importante compañía farmacéutica ha reunido a lo largo de los años hasta un conjunto más pequeño comprado a un proveedor comercial. Una biblioteca de detección suele estar diseñada para una aplicación concreta. Por ejemplo, se pueden comprar bibliotecas clasificadas por su actividad contra las proteína cinasas, bibliotecas con grupos reactivos que pueden formar enlaces covalentes con la proteína y bibliotecas diseñadas para muestrear una amplia gama de compuestos a través de una alta diversidad química. Un compuesto elegido al azar de una biblioteca de cribado tiene una probabilidad muy baja (normalmente de 0.1% o menos) de tener actividad contra un determinado objetivo (Shun *et al.*, 2011) y las mediciones de HTS están sujetas a error experimental. Por lo tanto, muchos de los compuestos que parecen activos en una detección inicial son positivos falsos, por lo que es esencial realizar un análisis cuidadoso de los datos y llevar a cabo pruebas confirmatorias.

Incluso los compuestos con resultados positivos en una detección de alto rendimiento distan mucho de ser fármacos. Su afinidad por el objetivo farmacológico es por lo general de órdenes de magnitud demasiado pequeños, pueden carecer de la especificidad deseada y no cumplen con los criterios necesarios de metabolismo, farmacocinética o de seguridad. Sin embargo, ofrecen un punto inicial en el desafío de encontrar una molécula potente con potencial terapéutico. El siguiente paso es comprar (por catálogo) o sintetizar (química farmacológica) compuestos similares que en última instancia dan una imagen de cómo varios cambios en la estructura química influyen en la actividad contra el objetivo farmacológico (relaciones de actividad-estructura, o SAR [structure-activity relationships]) y otras propiedades (fig. 1-1). Esta información se utiliza para guiar la síntesis de cientos de compuestos con propiedades que mejoran de manera gradual. Las



Compuesto	ALDH1A1	ALDH2	ALDH3A1
1	0.02	82	77
2	0.06	2.1	16
3	0.58	2.1	69
4	0.07	3.5	0.45
5	0.07	>100	0.31
6	2.0	0.05	18

FIGURA 1-1 Relación estructura-actividad: estructuras básicas y sustitutos. Cinco inhibidores de la familia de enzimas de aldehído deshidrogenasa tienen una estructura química común (negro) mientras que tienen diferentes sustitutos químicos en dos posiciones (rojo, verde). En el cuadro se mencionan los IC_{50} (μM) de cada compuesto para tres miembros de la familia de enzimas de aldehído deshidrogenasa: ALDH1A1, ALDH2 y ALDH3A1; es decir, la concentración de compuesto necesaria para producir inhibición de 50% de cada enzima. Cuanto más bajo sea el IC_{50} , más potente será el compuesto que inhibe la enzima. Centrándose primero en los compuestos 1, 2 y 3, se puede observar que agregar un átomo halógeno cada vez más voluminoso (Cl, Br) en el anillo de seis miembros tiende a reducir la potencia del compuesto contra ALDH1A1 y ALDH3A1, pero a aumentarla contra ALDH2. Al observar los compuestos 1, 4 y 5, se puede ver que al agregar sustitutos aromáticos no polares cada vez más voluminosos, en el nitrógeno se reduce poco la potencia contra ALDH1A1; al inicio mejora, pero más tarde afecta la potencia contra ALDH2 y mejora de forma consistente la potencia contra ALDH3A1. Tales patrones pueden guiar el diseño de nuevos compuestos con la potencia y selectividad deseadas. Por ejemplo, las sustituciones en los compuestos 3 y 4 reducen cada uno su potencia contra ALDH1A1 mientras aumentan su potencia contra ALDH2, por lo que no es sorprendente que el compuesto 6, que combina ambos sustitutos tenga una potencia particularmente baja contra ALDH1A1 y una alta potencia contra ALDH2. Nótese que este tipo de razonamiento solo puede ofrecer guías generales; sus predicciones no siempre se confirman en experimentos. Datos extraídos de Kimble-Hill *et al.*, 2014.

moléculas iniciales más prometedoras (*compuestos líderes*) sirven como puntos de partida para una mejora adicional (*optimización de una molécula líder*), con la idea de mejorar la molécula con potencial terapéutico, tal vez acompañada de varios productos derivados en caso de que la molécula original no tenga la utilidad terapéutica esperada.

Descubrimiento de fármacos basado en fragmentos

Incluso una detección a gran escala podría no proporcionar resultados útiles (Keserü y Makara, 2009). Este resultado se vuelve comprensible cuando uno reconoce que el número de compuestos orgánicos estables, del tamaño de un fármaco, se encuentra en el orden de 10^{60} (Reymond *et al.*, 2010), así que una detección de incluso 10^6 compuestos apenas representa una mínima parte del inmenso espacio químico. Esta gran cantidad se origina de las diversas combinaciones de las formas de conectar varias subestructuras químicas, tales como anillos de benceno, grupos hidroxilo y alcanos cíclicos. Para tener una buena unión, un compuesto debe contar con múltiples subestructuras colocadas de forma que se creen interacciones favorables con los grupos complementarios en la cavidad donde ocurre la unión. Si un compuesto químico tiene dos sitios de unión adecuados para el objetivo farmacológico, pero un tercer componente es inapropiado o se encuentra en el sitio incorrecto, podría no ocurrir la unión con el objetivo farmacológico. Esta perspectiva motivó otro método de descubrimiento de medios de unión, el descubrimiento de fármacos basados en fragmentos (FBDD, *fragment-based drug discovery*) (Erlanson, 2012; Lamoree y Hubbard, 2017). En el FBDD, se descomponen conceptualmente compuestos del tamaño de los fármacos en sus subestructuras (*fragmentos*) y se analizan subestructuras simples contra el objetivo farmacológico. Aunque tales moléculas (*fragmentos*) pueden unirse de manera débil, tales estudios pueden identificar un pequeño conjunto de subestructuras químicas que son adecuadas para el objetivo farmacológico y luego se pueden comprar o sintetizar compuestos más grandes ensamblados a partir de estos componentes. Cuando se utiliza la cristalografía de rayos X (Patel *et al.*, 2014) o la espectroscopia de resonancia magnética nuclear (Shuker *et al.*, 1996) para detectar o analizar la unión de fragmentos, normalmente se dispone de información específica sobre dónde se une cada fragmento a la proteína. Esta información puede utilizarse para unir compuestos diseñados que coloquen los fragmentos apropiados en los lugares adecuados para la cavidad de fijación a la proteína (*unión de fragmentos*) o para optimizar y ampliar un fragmento seleccionado (*aumento de tamaño de fragmentos*). De esta manera, el FBDD evita la gran cantidad de combinaciones de posibles compuestos producidos a partir de varios componentes químicos y permite a los investigadores centrarse con rapidez en compuestos hechos de un solo subconjunto productivo de componentes químicos. El fármaco *vemurafenib*, que se dirige a una mutación oncogénica de la cinasa B-Raf, se desarrolló con una estrategia de aumento de tamaño de fragmentos y se identificó como el primer caso de éxito del FBDD (Bollag *et al.*, 2012).

Tecnologías experimentales emergentes

La dificultad y el costo de descubrir fármacos, junto con la necesidad del mercado y la necesidad humana de nuevos medicamentos, han impulsado la innovación continua en las tecnologías de descubrimiento de fármacos. Por ejemplo, las bibliotecas de compuestos codificados con DNA (DEL, *DNA-encoded compound libraries*) amplían en forma notable el número de compuestos que pueden analizarse, en comparación con la HTS convencional (Halford, 2017). A diferencia de una biblioteca tradicional de compuestos identificados por HTS, en la que cada uno de ellos se guarda en su propio contenedor o en un vial independiente, un DEL es una mezcla de compuestos en un único contenedor y puede incluir muchos más compuestos, miles de millones e incluso billones. Cada compuesto único de la mezcla está unido por enlace covalente a una molécula pequeña del DNA correspondiente, que sirve como etiqueta de identificación. Tales bibliotecas pueden ser sintetizadas y etiquetadas con los métodos de química de combinación, donde una mezcla de compuestos se divide en múltiples porciones, cada porción es modificada con un paso químico diferente y sus etiquetas de DNA son modificadas en consecuencia, después las porciones son mezcladas de nuevo. Este proceso se repite hasta que

la síntesis se completa. Para la detección de compuestos activos con DEL, se puede inmovilizar el objetivo farmacológico de interés en una superficie sólida, se expone la superficie a la mezcla de DEL y a continuación, se lava la superficie para eliminar todos los compuestos de DEL que no se han unido de manera firme al objetivo farmacológico. Los compuestos se retiran del objetivo farmacológico mediante un lavado más intensivo y se identifican los compuestos activos mediante la secuenciación de las etiquetas de DNA que portan.

Otra tecnología emergente, a veces denominada *estudios clínicos en caja de Petri* (Alpeeva *et al.*, 2017; Fermini *et al.*, 2018; Strauss y Blinova, 2017), tiene como objetivo predecir los efectos de un compuesto en seres humanos con mayor precisión de lo que es posible con cultivos celulares estándar o modelos animales. Este método implica la creación de tipos celulares específicos de interés a partir de células madre humanas pluripotenciales y su uso para crear organoides tridimensionales en cultivo (Fligor *et al.*, 2018; Liu *et al.*, 2021; Sato y Clevers, 2013) o estructuras de tejidos artificiales a través de bioimpresión tridimensional (Ferrer y Simeonov, 2017). Estas estructuras *in vitro* relativamente intrincadas prometen resumir mejor las propiedades de los tejidos correspondientes *in vivo* y pueden utilizarse para analizar compuestos para identificar la actividad y las propiedades metabólicas del fármaco, así como la farmacocinética y metabolismo del compuesto y su toxicidad.

Descubrimiento de fármacos asistido por computadora

La mejora en la tecnología de la información ha permitido a la comunidad investigadora almacenar y desplazar grandes cantidades de información, escribir y mantener software complejo y realizar cálculos a una velocidad y escala sin precedentes. Estas capacidades de mejora continua se utilizan de diversas formas para apoyar y acelerar el descubrimiento de fármacos. Así pues, la informática química permite la creación de bases de datos compactas de información sobre cientos de millones de compuestos y la recuperación rápida de datos químicos para un compuesto específico o para compuestos similares en su estructura química (Willett *et al.*, 1998), mientras que en la Internet están fácilmente disponibles bases de datos sobre productos químicos (Gaulton *et al.*, 2012; Gilson *et al.*, 2016; Kim *et al.*, 2021), macromoléculas (Benson *et al.*, 1994; Berman *et al.*, 2000; Berman y Gierasch, 2021; UniProt Consortium, 2015), vías macromoleculares (Croft *et al.*, 2014; Ogata *et al.*, 2000; Oughtred *et al.*, 2021; Wishart *et al.*, 2020) y otras bases de datos de fácil acceso para investigadores de todo el mundo. Estos datos son útiles por derecho propio y también apoyan el desarrollo y el análisis de modelos informáticos utilizados en el descubrimiento de fármacos.

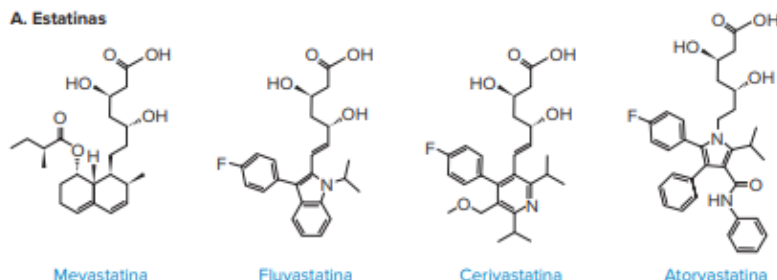
En paralelo, los aumentos exponenciales en la velocidad de las computadoras, medidos como el número de operaciones matemáticas ejecutadas por segundo, han hecho posibles simulaciones moleculares más detalladas y en mayor número. De forma ideal, un químico computacional podría diseñar un compuesto, entregar el diseño a un químico farmacólogo para sintetizarlo y el compuesto debería unirse con el objetivo farmacológico con afinidad nanomolar. Cuando este nivel de precisión se vuelve factible, se puede ir más allá y calcular la afinidad de una molécula con potencial terapéutico con todas las proteínas humanas conocidas para verificar las interacciones no deseadas. Este nivel de precisión no es posible hoy en día, pero los métodos existentes tienen valor predictivo y el creciente poder informático puede hacer que esta visión se pueda lograr en los próximos años.

Los métodos para predecir las interacciones de una molécula pequeña con una proteína pueden dividirse en *métodos basados en ligando* y *basados en la estructura*, como se explica más adelante.

Uso de la similitud química para descubrir ligandos dirigidos

Si la proteína sobre la que se actuará es una enzima con un sustrato de molécula pequeña o es un receptor de una molécula pequeña (p. ej., histamina), entonces, los compuestos similares en estructura química al sustrato o al transmisor pueden estar activos contra el objetivo y por lo tanto, pueden resultar útiles para el diseño del fármaco (fig. 1-2).

A. Estatinas



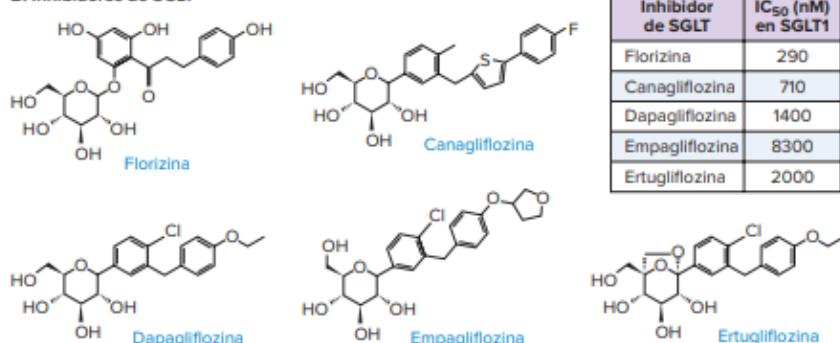
Mevastatina

Fluvastatina

Cerivastatina

Atorvastatina

B. Inhibidores de SGLT



Florizina

Canagliflozina

Dapagliflozina

Empagliflozina

Ertugliflozina

Inhibidor de SGLT	IC ₅₀ (nM) en SGLT1	IC ₅₀ (nM) at SGLT2	Selectividad relativa para SGLT2 (col2/col3)
Florizina	290	21	~14
Canagliflozina	710	2.7	~260
Dapagliflozina	1400	1.2	~1200
Empagliflozina	8300	3.1	~2700
Ertugliflozina	2000	0.9	~2200

FIGURA 1–2 Uso de la similitud química para desarrollar ligandos. **A. Estatinas.** Las estatinas inhiben la 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A reductasa (HMG-CoA reductasa), la enzima que limita la velocidad en la síntesis de colesterol. Estos inhibidores se utilizan ampliamente para reducir las concentraciones de colesterol en la sangre (cap. 37). La mevastatina es un producto natural que inspiró el desarrollo de las tres estatinas aprobadas por la FDA que se muestran aquí. Cada compuesto tiene una parte inferior policíclica ligada a un grupo funcional hidroxilado común, que también puede existir como lactona cíclica. **B. Inhibidores SGLT.** Los transportadores de sodio-glucosa (SGLT) facilitan la entrada de glucosa en el tubo digestivo (SGLT1) y en el riñón (SGLT2). El producto natural florizina inhibe ambos SGLT en diversos grados. Las modificaciones de la estructura de la florizina llevaron a los cuatro inhibidores de SGLT2 relativamente específicos aprobados por la FDA, las gliflozinas, que se muestran aquí. Las gliflozinas disminuyen la reabsorción renal de glucosa, reduciendo así las concentraciones de glucosa en la sangre y por lo tanto se utilizan para tratar la diabetes tipo 2 (cap. 51). Cada compuesto tiene un grupo funcional de glucosa (excepto ertugliflozina, que tiene un grupo funcional similar a la glucosa), sensible para compuestos que interactúan con transportadores que unen la glucosa. Los grupos funcionales que contienen fenilo dotan a cada inhibidor de diversas actividades contra cada una de las dos formas de proteínas, como se muestra en el cuadro. Las actividades se muestran como IC₅₀, la concentración del fármaco (nM) que reduce la actividad del transportador en 50%. Datos adaptados de Fediuk *et al.* (2020) y Wright (2021).

Puede disponerse de información más extensa sobre los ligandos para el objetivo farmacológico a partir de esfuerzos previos de descubrimiento de fármacos y esta información puede utilizarse para guiar un nuevo proyecto. Como se señaló antes, incluso si ya se ha desarrollado un fármaco para un objetivo farmacológico, todavía puede haber espacio para un fármaco del mismo grupo con mejores propiedades, como una dosificación oral menos frecuente o menos efectos secundarios. En las publicaciones médicas está disponible una gran cantidad de información que apoya el descubrimiento de fármacos basados en ligandos, patentes y bases de datos públicas (Gaulton *et al.*, 2012; Gilson *et al.*, 2016; Kim *et al.*, 2019).

Las mediciones de similitud química resumen las estructuras químicas detalladas de los compuestos en características que pueden ser calculadas y comparadas entre las diferentes moléculas. Un método calcula la huella molecular de un compuesto, que indica si existen varias subestructuras moleculares (Muegge y Mukherjee, 2016). Otras mediciones de similitud eliminan tales detalles y en su lugar calculan y comparan las formas generales de las dos moléculas y los campos eléctricos que generan (Bajorath, 2017). En un tercer método, la forma molecular se deja de lado y en cambio se calculan decenas o cientos de descriptores cuantitativos para cada compuesto. Los ejemplos incluyen descriptores simples, como el peso molecular o el número de anillos aromáticos y otros más complejos, como los momentos eléctricos dipolares y cuadrupolares. Si se considera a los descriptores como coordenadas cartesianas en un espacio multidimensional, se puede cuantificar la similitud de dos moléculas en términos de lo cerca que están en este espacio descriptor (Wale *et al.*, 2008).

Las mediciones de similitud como estas permiten la *detección virtual*, una alternativa computacional rápida y económica a la HTS experimental (fig. 1–3). En este método, cada compuesto de una biblioteca química, un gran conjunto de compuestos disponibles o sintetizables, se analiza por su similitud con uno o más ligandos conocidos de la proteína sobre la que se pretende actuar. Los compuestos con mayor similitud se valoran en un estudio clínico experimental y las moléculas con potencial terapéutico confirmado se vuelven elegibles para una mayor optimización química. Este método es más relevante cuando no se ha determinado la estructura tridimensional de la proteína. Cuando se conoce la estructura, se aplican métodos potentes basados en la estructura.

Diseño del fármaco basado en la estructura

La estructura tridimensional detallada de una proteína abre una serie de métodos computacionales adicionales para diseñar una molécula pequeña que se una al objetivo con alta afinidad (fig. 1–4). La aplicabilidad de tales métodos de diseño de fármacos basado en la estructura (SBDD, *structure-based drug design*) ha crecido de manera continua, debido a los aumentos rápidos en la potencia de cómputo y al desarrollo de tecnologías que hacen que sea más fácil y rápida la identificación de las estructuras de las proteínas. Un ejemplo es el uso de sincrotrones (p. ej., el *Advanced Photon Source at Argonne National Laboratory*) para generar haces de rayos X de alta calidad para su uso en cristalografía de rayos X de proteínas. Otro es el desarrollo de métodos para resolver las estructuras de las proteínas unidas a la membrana, como los conductos iónicos y los receptores de la superficie celular. Estos pueden ser

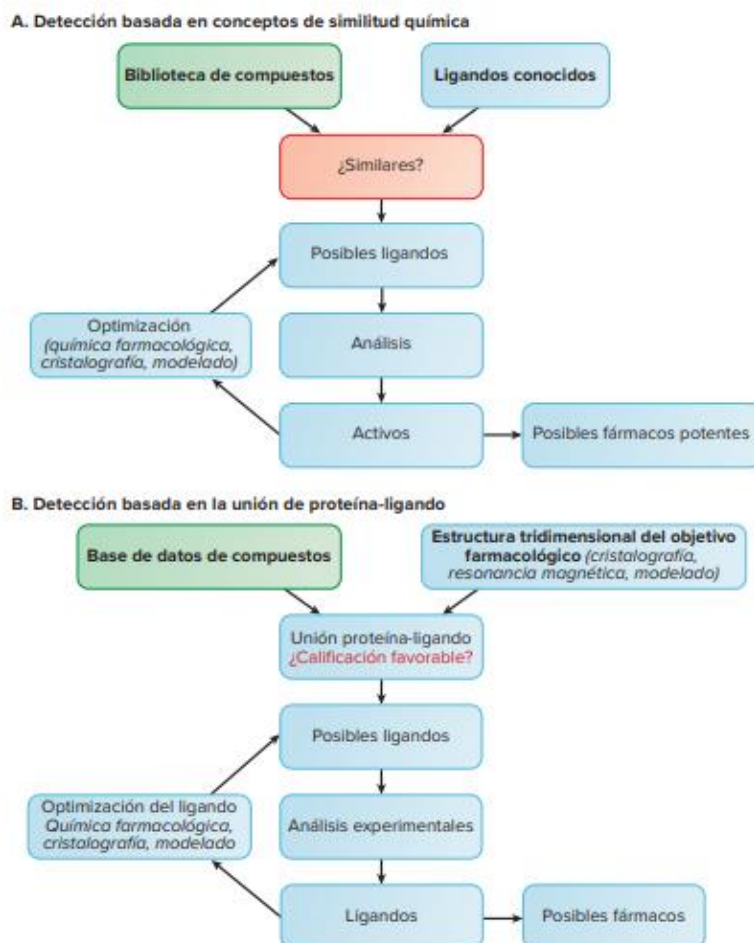


FIGURA 1-3 Detección virtual. A. *Detección virtual de compuestos basado en conceptos de similitud química.* Utilizando las mediciones de similitud disponibles, los compuestos de una base de datos (verde) se prueban por análisis computarizado para determinar la similitud química con los ligandos conocidos (sitios de fijación) de la proteína estudiada. Los compuestos que se encuentran por arriba del umbral de similitud se consideran posibles ligandos y, por lo tanto, se analizan de manera experimental para valorar su unión a la proteína estudiada. Los que resultan inactivos se desechan, mientras que los "activos" son sometidos a rondas iterativas de optimización de ligando donde se definen las relaciones estructura-actividad y se utilizan para guiar el diseño de nuevos compuestos por los químicos farmacólogos. Cuando se encuentran compuestos suficientemente activos, estos se convierten en moléculas con potencial terapéutico en fase inicial. B. *Detección virtual de compuestos basado en el acoplamiento proteína-ligando.* Los compuestos de una base de datos (verde) se analizan por computadora; es decir, se ajusta el sitio de unión con la proteína estudiada de estructura tridimensional conocida. Los compuestos cuyas interacciones estabilizadoras calculadas con el sitio de unión se encuentran por arriba del umbral de similitud se consideran posibles ligandos y, por lo tanto, se analizan de manera experimental para la valorar la unión a la proteína estudiada. Los inactivos se desechan, mientras que los "activos" se someten a rondas iterativas de optimización de ligando. Esto suele implicar el uso de la estructura de la proteína para diseñar nuevos compuestos que pueden formar mejores interacciones con el sitio de unión y resolver las estructuras de la proteína por cristalización con los compuestos seleccionados para determinar si los compuestos diseñados se unen como se esperaba y para guiar más rondas de diseño químico y de síntesis. En esta etapa también se pueden utilizar métodos computacionales avanzados, como cálculos de energía libre basados en simulación. Cuando se encuentran compuestos suficientemente activos, estos se convierten en moléculas con potencial terapéutico en fase inicial.

posibles objetivos farmacológicos de alta calidad porque un fármaco no necesitaría entrar en la célula para acceder a ellos y porque regulan muchos procesos celulares. Sin embargo, sus estructuras eran virtualmente imposibles de resolver hasta que se desarrollaron métodos en los últimos años para hacer crecer cristales tridimensionales a partir de ellas. Desde al menos el decenio de 1980, la promesa de avances en los métodos de SBD ha inspirado la fundación de múltiples empresas.

El campo de la química física se encarga de calcular la afinidad de unión de dos moléculas en el agua (Gilson y Zhou, 2007). De forma ideal, uno podría usar soluciones numéricas de la ecuación de Schrödinger para obtener la función de onda electrónica para el compuesto, la proteína estudiada y el solvente acuoso, para cualquier conformación dada del sistema (es decir, dadas las coordenadas cartesianas de todos

los átomos). A partir de la función de onda, podría calcularse la fuerza instantánea en cada átomo. Con este método de cálculo de las fuerzas atómicas, se podría simular el sistema atómico en detalle, calculando el trabajo reversible de extraer de forma gradual el compuesto del sitio de unión de proteínas a medida que todos los átomos se agitan, se ajustan y se desplazan debido al movimiento térmico (Feynman *et al.*, 1963). Este trabajo reversible equivale a la energía libre de unión, ΔG° , que está relacionada de manera directa con la constante de disociación, K_D :

$$\Delta G^\circ = RT \ln K_D \quad (\text{Ecuación 1-1})$$

Esto sería un cálculo masivo prohibitivo con la tecnología informática existente. Sin embargo, los investigadores han creado aproximaciones rápidas a tal cálculo ideal, cada uno con sus propias fortalezas y