



**UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA**

**FACULTAD DE FARMACIA**

**Trabajo de Fin de Grado**

**Estrategias en el diseño de fármacos**



**Guillermo Francisco Ramírez Reyes**

Índice	Pág.
Abstract	1
Resumen	1
Palabras clave (keywords)	1
Abreviaturas	1
1. Introducción	2
2. Objetivos	3
3. Material y métodos	3
4. Resultados:	3
4.-1. Etapas y coste que supone sacar un nuevo fármaco al mercado	3
4.-2. Diseño de Fármacos Asistido por Computadora (CADD) <ul style="list-style-type: none"> <li>• 4.2a. Los objetivos del CADD</li> <li>• 4.2b. Ventajas del CADD frente al High-throughput screening (HTS)</li> </ul>	6
4.-3. Protocolo general/herramientas en el desarrollo de fármacos y los métodos computacionales (esquema general)	7
4.-3a. CADD basado en la estructura de la diana	9
4.-3b. CADD basado en la estructura del ligando <ul style="list-style-type: none"> <li>• Ligandos procedentes de bases de datos de compuestos conocidos</li> <li>• Ligandos obtenidos por “Síntesis de novo”</li> <li>• Modelos QSAR</li> <li>• Química combinatoria</li> </ul>	10
4.-3c. Docking molecular (acoplamiento molecular) <ul style="list-style-type: none"> <li>• Elaboración del farmacóforo</li> <li>• Cribado virtual o ensayos in-silico (Virtual screening)</li> </ul>	15

4.-4. Obtención de un compuesto líder a partir de bases de datos de compuestos activos	21
4.-5. Quimiogenómica, polifarmacología y reposición de fármacos	24
4.-6. Algunos de los programas informáticos que se utilizan en el CADD	26
5.- Discusión y Conclusiones	27
6.- Bibliografía	28
Anexos	32

## Abstract

CADD methods have enabled us to optimize the design of drugs, reducing their costs and the time spent through an ensemble of computational tools such as docking, QSAR, pharmacophore models and virtual screening while using, at the same time, databases to obtain the desired compounds. With these methods, we will find some possible “hits” compounds that, with the help of screening, will provide a lead compound that subsequently will be optimized and tested in vivo and in vitro experiments.

Using computational tools has generated a greater knowledge about the interactions between a ligand–receptor, as well as a greater precision in the selected compound and speed up the development of new drugs.

Nowadays there is a large amount of new drugs in the market that have been discovered with these methods and it is a standard protocol in drugs design strategies.

## Resumen

Los métodos CADD han permitido optimizar el diseño de fármacos, reduciendo su costo y el tiempo empleado a través de un conjunto de herramientas computacionales como son el docking, QSAR, modelos del farmacóforo, el cribado virtual utilizando a su vez bases de datos para obtener los compuestos deseados. Con estos métodos, hallaremos posibles compuestos “hits” que, a través de filtrados, podremos conseguir un compuesto líder que posteriormente será optimizado y utilizado en experimentos in vivo e in vitro.

El uso de las herramientas computacionales ha supuesto un mayor conocimiento de las interacciones entre ligando–receptor, una mayor precisión en el compuesto seleccionado y una mayor rapidez para realizar el proceso de desarrollo de nuevos fármacos.

Existen ya numerosos fármacos en el mercado que han sido descubiertos por estos métodos y es el protocolo estándar hoy en día usado para las estrategias en el diseño de fármacos.

## Palabras clave (keywords)

Computer-Aided Drug Discovery and Design (CADD); Molecular docking; Molecular modeling; Pharmacophore; Virtual screening y Structure-activity relationships.

## Abreviaturas

QSAR: Quantitative structure-activity relationship; CADD: computer-aided drug design; HTS: High-throughput screening.

## 1. Introducción

**Perspectiva histórica** El descubrimiento de muchos fármacos ha sido producto de observaciones fortuitas. Así, Hipócrates (400 a.C.) observó que los extractos de raíces y hojas de sauce aliviaban el dolor. En 1829, se aisló de las raíces de sauce una mezcla que llamaron salicina y, más tarde, se identificó el ácido salicílico que se modificó (por Bayern) a ácido acetyl salicílico (Aspirina). Otros ejemplos son: la penicilina, clorpromazina (Torazina), Sildenafil (Viagra) [1]. O también a partir de la medicina tradicional china, Tu Youyou, investigadora china, buscando compuestos de interés para tratar la malaria aisló la artemisinina, extraída de *Artemisia annua* [2].

**Estrategia tradicional** Hasta no hace mucho se ha utilizado el modelo de la “llave y cerradura”; el fármaco encaja perfectamente en la diana. Este modelo fue propuesto por Emil Fischer hace más de 100 años, en el que afirma que un sustrato encaja perfectamente en su diana (enzima o proteína) [3]. En la mayoría de los casos, los fármacos actúan uniéndose a receptores o enzimas específicos e inhibiendo o modulando sus actividades. Históricamente los fármacos se han descubierto mediante un proceso en el que primero se identifica una sustancia que tiene una actividad fisiológica al ser administrada en un ser humano, animal o células. Estas sustancias son descubiertas fortuitamente, por fraccionamiento de plantas o de otros materiales con propiedades medicinales conocidas o por identificación sistemática de productos naturales o de otras “bibliotecas” de compuestos. En este proceso, primero se conoce el efecto biológico antes de la diana molecular. El modo de acción se conoce después.

**Las estrategias actuales** se basan en identificar una diana molecular por análisis sistemático o mediante el diseño de moléculas con las propiedades deseadas, que se unan a la molécula diana y regulen sus propiedades. [1] El desarrollo y avances en la química computacional, bioinformática, medicina, etc. han permitido el descubrimiento de fármacos asistido por computadora (CADD) que es el uso de un conjunto de técnicas computacionales como la bioinformática, la quimiinformática, la química teórica, el modelado molecular y visualización de datos. Esto nos permite: análisis de bases de datos moleculares, modelado molecular de compuestos con actividad biológica, identificación de compuestos bioactivos con cribado virtual (virtual screening), desarrollo y aplicación para cuantificar relaciones estructura actividad (QSAR; activity

landscape modeling) y la quimiogenómica computacional incluyendo reposicionamiento de fármacos y búsqueda de blancos terapéuticos. [4]

## **2. Objetivos**

El objetivo de este trabajo de revisión consiste en buscar, analizar y hacer una exposición general simplificada de las estrategias que se utilizan en el desarrollo y diseño de nuevos fármacos asistido por métodos computacionales. Con el fin de ilustrar los conceptos se incluyen varios ejemplos prácticos.

## **3. Material y métodos**

Las fuentes de información utilizadas en la elaboración del presente trabajo han sido: buscadores científicos y/o páginas webs tales como: NCBI, Uniprot, PubMed, PubChem, ScienceDirect, BUCea y Google Scholar; artículos de divulgación; trabajos originales de investigadores y libros de texto durante el periodo de recogida de datos y elaboración del trabajo. La búsqueda se hizo utilizando las palabras clave del trabajo y los artículos más recientes fueron seleccionados.

## **4. Resultados**

### **4.-1. Etapas y coste que supone sacar un nuevo fármaco al mercado.**

El costo asociado al desarrollo y comercialización de un nuevo fármaco ha aumentado un 150% en la última década; el coste actual estimado es de 2.6 billones de dólares. La probabilidad de fracaso es superior al 90% de los fármacos que entran en pruebas clínicas. El 75% del coste es debido a fracasos a lo largo del descubrimiento y diseño del proceso. [5] (Ver Figuras 1 y 2)

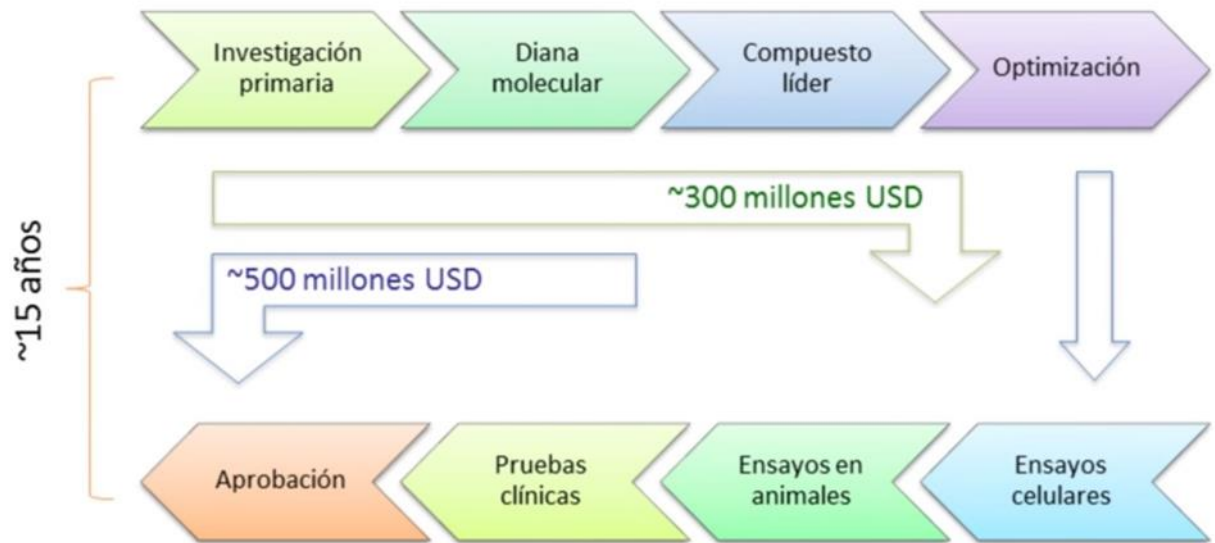


Figura 1. Etapas en el desarrollo de fármacos. Costo y tiempo aproximado. En promedio, se necesitan 10-15 años para el desarrollo de un nuevo fármaco. A partir de una investigación primaria, se identifican una o varias dianas moleculares de una enfermedad a estudiar. Se buscan compuestos líderes y se optimizan. El costo de estas primeras etapas es de aproximadamente 300 millones de dólares. Posteriormente, se aplican en ensayos celulares, animales, pruebas clínicas y se aprueban. El costo a partir de los ensayos celulares es de aproximadamente 500 millones. De cada 9000 compuestos que se estudian, sólo 1 de ellos se aprueba para uso en pacientes. Por tanto, las estrategias para diseñar nuevos fármacos deben optimizar el coste, el tiempo y conseguir fármacos con mayor porcentaje de éxito de lo que se ha conseguido hasta ahora. Figura elaborada a partir de [4].

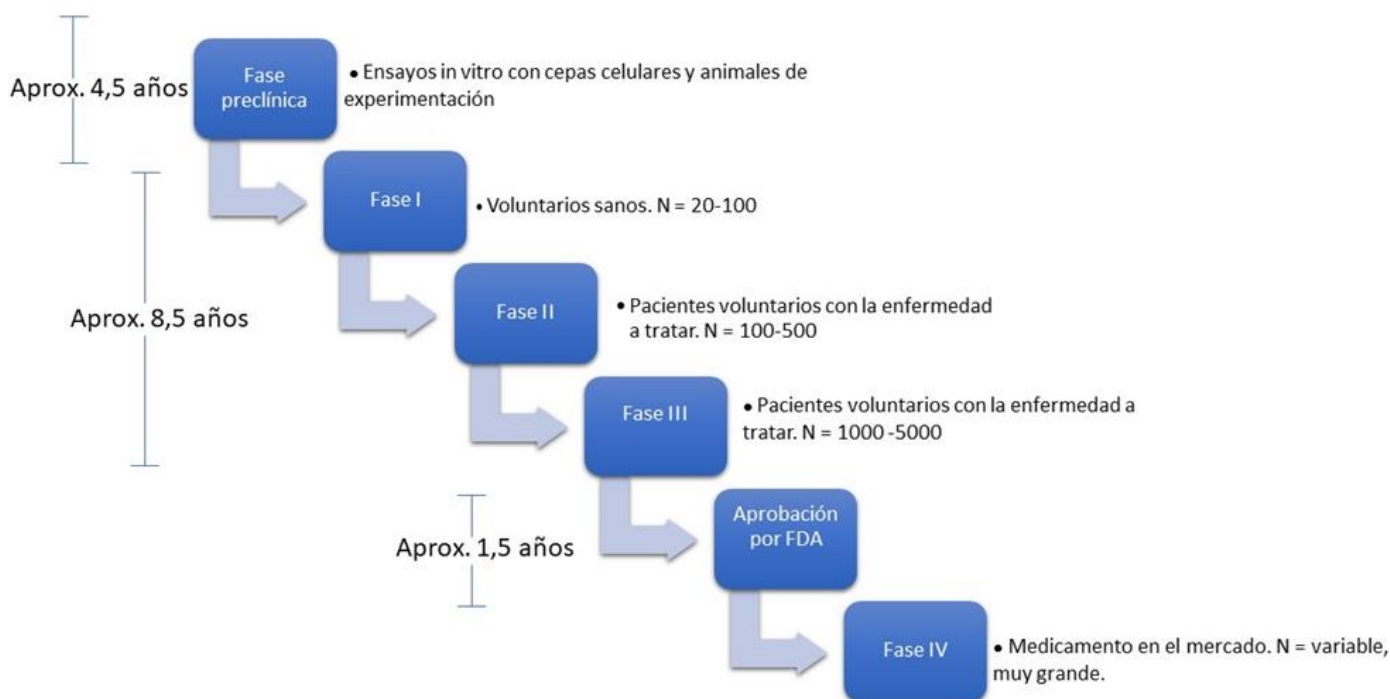


Figura 2. Fases en los ensayos preclínicos y clínicos. En la fase preclínica, al fármaco a investigar, se le realizan ensayos in vitro con cepas celulares y animales de experimentación en busca de estudios de farmacodinamia, farmacocinética y toxicología en unos 4,5 años. A partir de este último, se halla la toxicidad aguda, subaguda y crónica, así como la mutagénesis, carcinogénesis y teratogénesis. Posteriormente, el medicamento es aprobado para su uso en seres humanos. En la fase I, se realizan estudios de seguridad y tolerabilidad, farmacocinética (ADME) y farmacodinamia. Se realizan en individuos voluntarios sanos de 20-100 personas. En la fase II, los estudios se efectúan en individuos voluntarios enfermos, con la enfermedad que queremos tratar. Se estudia el efecto terapéutico, la dosis óptima y la seguridad (toxicidad) de dicho posible fármaco. En la fase III, los estudios van dirigidos a personas voluntarias enfermas, pero a mayor escala (1000-5000 personas) en busca de una confirmación en la eficacia y seguridad del fármaco. Estas tres fases duran aproximadamente 8,5 años. A continuación, si el fármaco supera todas las fases con éxito, es presentado y aprobado por la FDA (Food Drug Administration), que podría durar 1,5 años. Por último, en la fase IV ó post comercialización, el medicamento ya es aprobado y comercializado en el mercado. Se utilizan datos reales, se estudia la vigilancia de la seguridad (farmacovigilancia) por las instituciones competentes y se optimizan los fármacos aprobados. El número de pacientes será muy elevado y se realizarán evaluaciones a largo plazo



*y desarrollos adicionales como nuevas indicaciones para dicho medicamento. El número de años e individuos es variable e intrínseco a cada estudio. Figura con modificaciones de [6] y [7].*

## 4.-2. Diseño de Fármacos Asistido por Computadora (CADD)

### 4.-2a. Los objetivos del CADD

1) Identificación de nuevos compuestos: descubrir o diseñar nuevas estructuras con efecto biológico en una categoría terapéutica deseada. 2) Seleccionar candidatos: a partir de moléculas existentes o que podamos sintetizar, los métodos computacionales nos permiten establecer prioridad en qué grupo de moléculas tienen mayor probabilidad y menor probabilidad de tener la actividad que deseamos. 3) Optimizar líderes: cuando ya conocemos la estructura, usando técnicas computacionales, podemos incrementar su potencia y/o disminuir efectos secundarios. Sin embargo, los modelos computacionales no hacen predicciones exactas de la actividad in vivo. Los cálculos computacionales no demuestran la actividad biológica, no reemplazan un experimento, los acompañan y dan orientación a las pruebas biológicas. [4]

### 4.-2b. Ventajas del CADD frente al High-throughput screening (HTS)

Algunos investigadores utilizaron herramientas CADD para cribar los inhibidores de la enzima tirosin fosfato, (LMPTP) implicada en la diabetes. Aplicando el cribado virtual, se encontraron 365 compuestos de los cuales 127 mostraron capacidad de inhibición. Mientras que, utilizando el mismo grupo de compuestos, mediante HTS (Cribado de Alto Rendimiento) contra la misma diana sólo 81 compuestos mostraron capacidad inhibitoria. Este estudio comparativo mostró el poder de CADD. El CADD tiene la capacidad de aumentar la probabilidad de encontrar un hit de nuevos fármacos porque utiliza una búsqueda dirigida más que el acercamiento tradicional. Ejemplos de fármacos descubiertos mediante CADD son: la dorzolamina, captopril, saquinavir, ritonavir e indanavir. [5]

#### 4.-3. Protocolo general/herramientas en el desarrollo de fármacos y los métodos computacionales (esquema general)

El proceso de desarrollo de un fármaco a partir del CADD, se puede hacer de dos maneras diferentes. Uno a partir de métodos basados en la estructura de la proteína diana; y el otro a partir del ligando. Ambos procedimientos de forma general se muestran en la Figura 3 y se resumen en la Tabla 1.

**Tabla 1. Diferencias entre CADD basados en la estructura de la proteína diana o basados en el ligando. Tomada de [5] con modificaciones.**

<b><u>Basados en la estructura de la diana</u></b>	<b><u>Basados en el ligando</u></b>
Conocimiento de la estructura de la proteína diana para calcular la energía de interacción.	Conocimiento de la estructura del ligando el cual ayuda a la predicción de la unión, modelos QSAR.
Preferible cuando los datos estructurales de alta resolución de la proteína diana están disponibles.	Preferible cuando no hay información o muy poca sobre la estructura disponible de la diana terapéutica.
El objetivo es diseñar compuestos que se unan fuertemente al blanco.	El objetivo es hacer un cribado virtual de la base de datos de los ligandos.
Las técnicas incluyen Dinámicas Moleculares, Diseños de Nova y Modelos del farmacóforo.	Las técnicas incluyen QSAR, Cribado de Alto Rendimiento y modelado del farmacóforo.

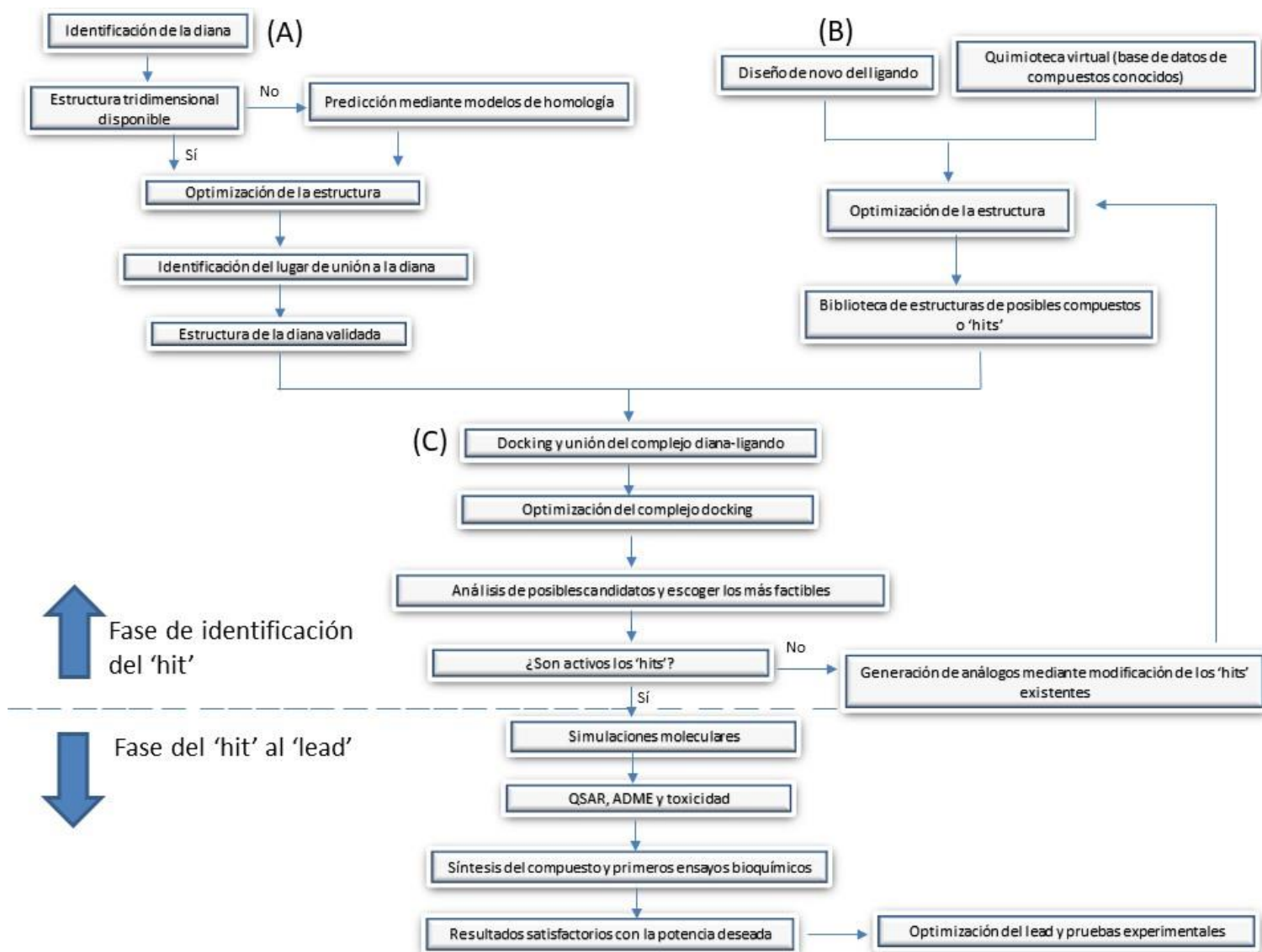


Figura 3. Proceso para identificación del 'hit' y posteriormente al 'lead'. **(A)** Preparación de la estructura de la proteína diana y análisis de los sitios de unión; **(B)** Preparación a través de librería de compuestos; **(C)** Docking de compuestos que se unen a la diana. Figura tomada de [8] con modificaciones.

#### 4.-3a. CADD basado en la estructura de la diana

En esta estrategia basada en la estructura de la proteína diana (figura 3 A) existen dos alternativas, según conozcamos o no la estructura tridimensional de dicha proteína. Si no la conocemos, es necesario sintetizar y purificar la proteína; a continuación, mediante técnicas tales como cristalografía de rayos X, espectroscopía de RNM o criomicroscopía electrónica (Cryo-EM) determinamos la estructura. (Ver Figura 4).

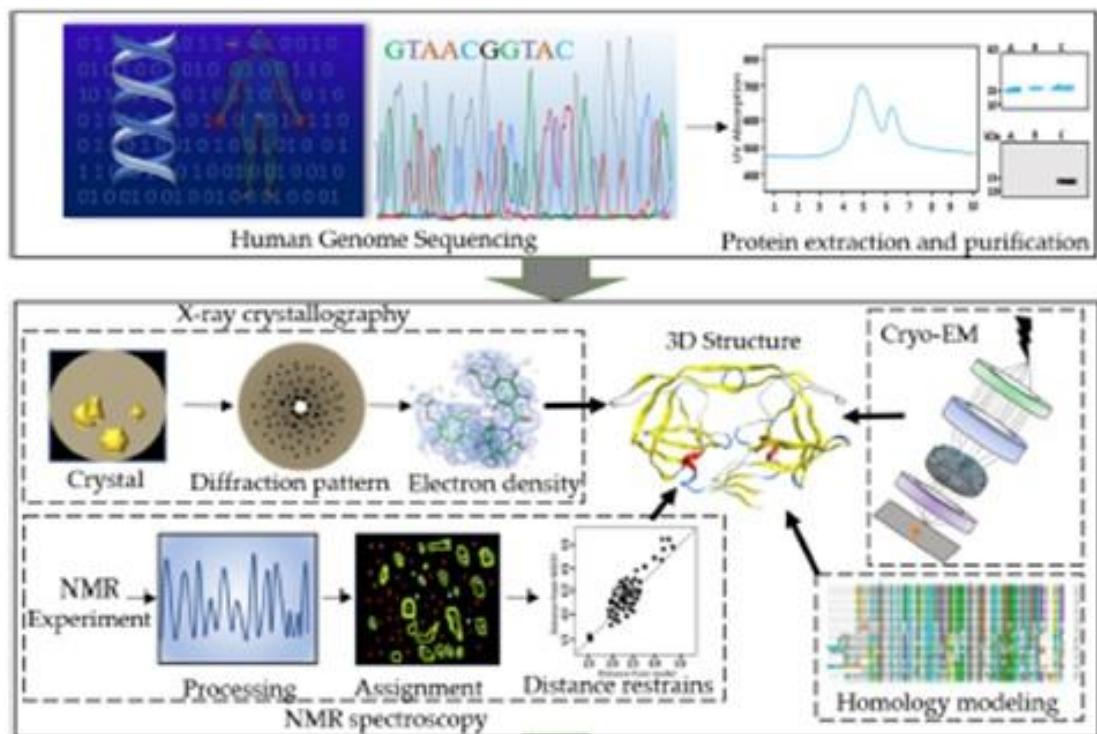


Figura 4. Fases previas del CADD basado en la estructura de la proteína diana. El panel superior muestra la obtención de la secuencia del genoma humano seguida de la extracción y purificación de la proteína de interés. En el panel inferior, se representan las técnicas para determinar la estructura de la proteína como son la cristalografía de rayos X, espectroscopía de RNM (Resonancia Magnética Nuclear), modelos de homología y criomicroscopía electrónica (Cryo-EM). En los modelos de homología, se utilizan proteínas homólogas para ayudarnos a conocer su estructura. Con todas las técnicas anteriores, podemos obtener la estructura tridimensional de la proteína que queremos estudiar. Figura tomada de [9].

La segunda opción puede ser obtener la estructura tridimensional a partir de una base de datos de proteínas, Protein Data Bank (PDB). Cuando la estructura de la proteína no

está disponible, se predice su estructura a través del modelo de homología y la estructura es optimizada. La estructura extraída debe ser pre-procesada para poder eliminar moléculas de agua de la cavidad, estabilizar las cargas, rellenar los residuos perdidos, generar nuevas cadenas laterales, etc., de acuerdo con los parámetros disponibles. En una segunda fase, debemos predecir el lugar activo de unión en la proteína diana, ya que la interacción de proteína – ligando es un prerrequisito esencial para la actividad del fármaco, siendo sólo posible cuando los lugares de unión de alta afinidad son identificados. La proteína debe tener muchos lugares activos de unión. Existen herramientas computacionales tales como POCKET, RNA-binding Proteins Database (RBPDB), SURFNET y Q-SITEFINDER están disponibles para predecir los sitios de unión [5].

#### 4.-3b. CADD basado en la estructura del ligando

##### 1) Ligandos procedentes de bases de datos de compuestos conocidos

La segunda vía del desarrollo de fármacos, es a partir del CADD basado en el ligando (figura 3 B). Los ligandos se pueden obtener de cualquier quimioteca; de productos naturales, síntesis de novo o de química combinatoria. En cualquiera de los casos, habría que hacer una preselección (prescreening) basándonos en criterios para el ADME como reglas de Lipinski, en criterios estructurales como efectos electrónicos y estéricos y en modelos QSAR (relaciones estructura – actividad). Otro aspecto importante es la optimización de propiedades farmacocinéticas (ADMET). En el posible fármaco se debe estudiar su correcta absorción, distribución, metabolismo, excreción y toxicidad.

En la interacción receptor-ligando, la afinidad depende de:

- 1) conjunto de interacciones (puentes salinos, puentes hidrógeno, interacciones dipolo-dipolo o fuerzas de Van der Waals).
- 2) desolvatación ligando-receptor.
- 3) cambios estructurales.
- 4) cambio entrópico traslacional y rotacional y pérdida de flexibilidad conformacional, aportación negativa a la afinidad, debe ser compensado con la energía interacción. [3]

En la regla del cinco de Lipinski, establece, empíricamente, que para que un compuesto sea biodisponible por vía oral debe cumplir con al menos 3 de las siguientes 4 condiciones:

- 1) poseer un peso molecular por debajo de 500,
- 2) no tener más de 5 átomos dadores de enlaces de hidrógeno,
- 3) no tener más de 10 átomos aceptores de enlaces de hidrógeno y
- 4) poseer un valor de log P incluido en el intervalo entre -5,0 y 5,0 según método de Hansch (equivalente a log P de Moriguchi entre -4,15 y 4,15), siendo el coeficiente de reparto octanol-agua aproximadamente 2, el óptimo para atravesar la barrera hematoencefálica.

Si dos o más de estos parámetros están fuera de rango, es muy probable que el compuesto presente una escasa solubilidad (cuando supera los valores críticos de log P o peso molecular) o una pobre absorción (cuando supera los valores críticos de los números de dadores o aceptores de hidrógeno). Esta regla expresa el balance entre la solubilidad acuosa y habilidad para atravesar las membranas biológicas. [10]

Los factores electrónicos y estéricos también son importantes para seleccionar un ligando. (Ver Figura 5)

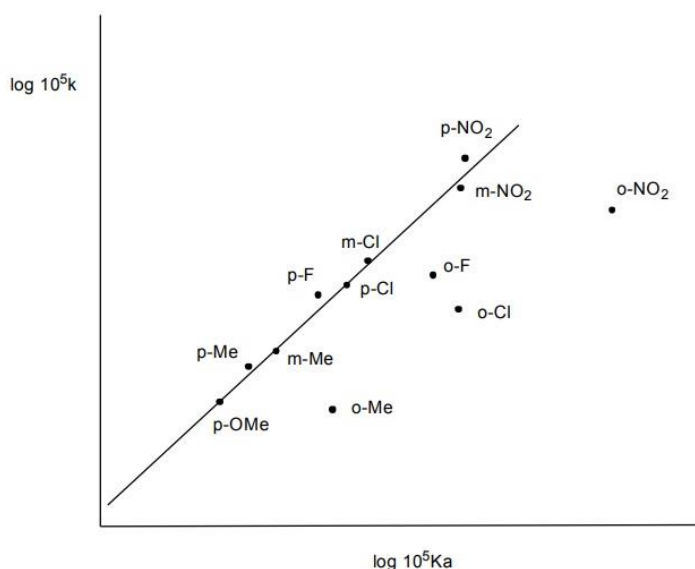


Figura 5. Representación del logaritmo de la constante "k" frente al logaritmo de la constante "Ka". Se observa linealidad en los sustituyentes en "meta" y "para" en el benceno, mientras que no es así en los grupos "orto". Esto sugiere que los grupos "orto",

*además del componente electrónico, es afectado por el componente estérico, ya que los sustituyentes están muy próximos entre sí. Figura tomada de [11]*

Los ligandos pueden ser obtenidos a partir de bases de datos de ligandos tales como ZINC, PubChem, DrugBank y Chem DC o pueden hacerse bocetos utilizando bocetos químicos (chem sketch tool). Los ligandos son representados en formato SMILES (Simplified Molecular Input Line System, Sistema lineal de aportación molecular simplificado). [5]

## 2) Ligandos obtenidos por “Síntesis de novo”

En la síntesis de novo, se busca crear un nuevo compuesto líder desde cero. El principal objetivo es construir estructuras químicas de pequeño tamaño que mejor encajen en el espacio de la diana. Existen dos estrategias: diseño basados en receptor-diana o basados en el ligando, este último método se usa con menos frecuencia. En el método basado en el receptor, los hits son diseñados a partir de la estructura de la diana al colocar pequeños fragmentos en los sitios de unión activos de las proteínas. Las posiciones de los fragmentos pueden ser acoplados con anterioridad con la estructura utilizando algún programa computacional. Este proceso puede ser realizado de dos maneras: por “linking” (vinculación) o por “growing” (crecimiento). [8] (Ver Figura 6).

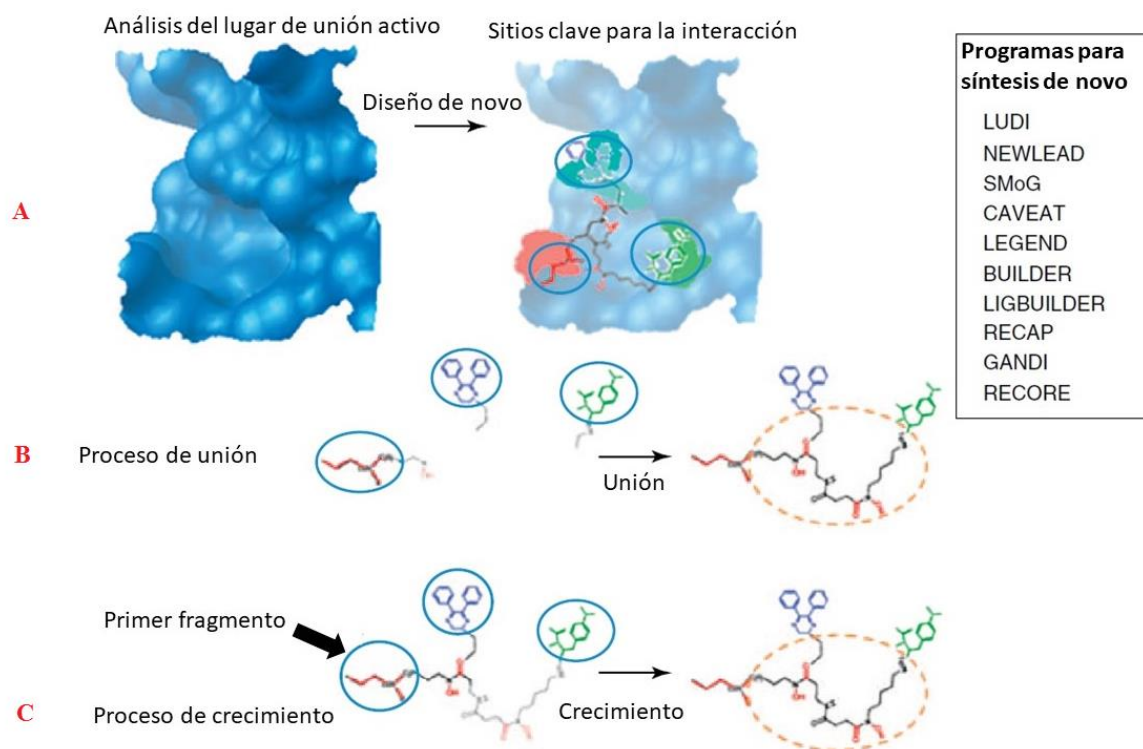


Figura 6. Estrategias para diseño de novo. En la parte superior izquierda (A), se observa una enzima en el que se debe buscar su lugar de unión activo frente a un sustrato. Las estrategias serían el “proceso de unión” o “linking process” en (B), en el que a partir de diferentes fragmentos pequeños tales como aminas, anillos individuales e hidrocarburos procedentes de librerías de compuestos son añadidos simultáneamente a diferentes residuos de lugares activos de la diana. Así, los pequeños fragmentos colocados en el sitio de unión se unen entre sí y forman un único compuesto final. Esta aproximación es ampliamente preferida por los investigadores porque la estrategia del diseño del fragmento es más útil en la mayoría de las dianas biológicas ya que abarcan distintos lugares de unión para cada pieza de un ligando. En (C), el método de “proceso de crecimiento” o “growing process”, en el cual un pequeño fragmento es colocado en el lugar activo de la diana y este fragmento crece de forma complementaria en el sitio del receptor. A la derecha, algunos de las herramientas computacionales utilizadas en la síntesis de novo. Figura obtenida de [8] con modificaciones.

### 3) Modelos QSAR

Los modelos QSAR, “Quantitative Structure-Activity Relationships” o Relaciones cuantitativas estructura-actividad, reúnen un conjunto de técnicas computacionales relacionadas con diseño y visualización espacial virtual de moléculas (in silico), cálculo



de propiedades fisicoquímicas moleculares, bioinformática y estadística. Todo esto con el fin de realizar una predicción teórica de la actividad biológica que permita el diseño teórico de posibles futuros nuevos fármacos, evitando así el proceso de ensayo y error de síntesis orgánica. Para llevar a cabo este estudio se necesitan básicamente tres tipos de información:

(A) Estructura molecular de diferentes compuestos que tengan un mismo mecanismo de acción (farmacodinamia) y, por lo tanto, se consideran como ligandos ante una diana biomolecular común.

(B) Datos de actividad biológica de cada uno de los ligandos incluidos en el estudio (tales como DE50, DL50, Ki, IC50, etc.)

(C) Propiedades fisicoquímicas (descriptores numéricos) de los ligandos calculados por métodos computacionales a partir de la estructura molecular generada in silico. [12]

(Ver Tabla 2)

**Tabla 2. Ejemplos de fármacos comerciales desarrollados por QSAR. Tabla tomada de [12].**

<b>Compuesto</b>	<b>Nombre comercial (Compañía farmacéutica)</b>	<b>Uso</b>	<b>Método computacional</b>
Norfloxacina	NOROXIN® (Kyorin Pharmaceutical)	Antibacteriano	QSAR
Captopril	CAPOTENA® (Squibb)	Antihipertensivo	QSAR
Losartan	COZAAR® (DuPont (BMS) Merck)	Antihipertensivo	Modelado molecular y QSAR

#### 4) Química combinatoria

Una última forma de obtener el ligando sería a través de la química combinatorial en la que se involucra la rápida síntesis de compuestos o se simulan por programas computacionales tales como Molinspiration de un gran número de moléculas y diferentes materiales que están estructuralmente relacionados con el fin de obtener nuevos posibles hits. [13]

##### 4.-3c. Docking molecular (Acoplamiento molecular)

Una vez conocido la estructura del ligando y de la proteína diana, se realiza el acoplamiento molecular automatizado (docking) (figura 3 C), por el cual queremos predecir el modelo de unión de una molécula con una diana molecular. A partir de estudios de relación estructura – actividad, se busca optimizar la interacción de la molécula con la diana biológica y evaluar los compuestos. Es el proceso de la predicción del potencial de unión o interacción intermolecular entre dos moléculas de forma computacional. [5] La principal aplicación del acoplamiento molecular es conocer el mecanismo de acción de moléculas o fármacos que tienen actividad biológica. [14] Algunas aplicaciones de docking se incluyen en la Tabla 3. [5]

Tabla 3. Aplicaciones del docking	Programas
Screening virtual	Autodock (más usado), Dock, Gold, Glide
Optimización del líder	
Predicción de la actividad biológica	
Acoplamiento a ciegas	
Interacción proteína – proteína	
Búsqueda de compuestos líderes para dianas con actividad biológica	
Ingeniería proteica	
Docking puede ser también utilizado para predecir y optimizar el metabolismo de fármacos, su farmacocinética y su toxicidad	

El objetivo de un programa computacional es encontrar una molécula que se una a la proteína deseada a bajas concentraciones. Cuando un medicamento tiene el valor de la constante de disociación ( $K_d$ ) muy pequeño, indica que éste y su diana biológica se unen fuertemente. La  $K_d$  permite, además, calcular la energía libre de Gibbs ( $\Delta G$ ) para la unión del complejo medicamento-sitio activo. Los cambios de entalpía ( $\Delta H$ ) y de entropía ( $\Delta S$ ), deben ser considerados en la evaluación de la energía de unión. Las interacciones que son controladas por la entalpía son los puentes de hidrógeno formados entre el medicamento y la enzima, mientras que los efectos hidrofóbicos controlan los cambios en la entropía. En el diseño de fármacos, el valor de la energía libre de Gibbs ( $\Delta G$ ) permite evaluar si la modificación de un medicamento aumenta o disminuye la afinidad con su objetivo biológico, estimando así la estabilidad relativa de los diferentes compuestos a estudiar. [15] El valor de la afinidad del medicamento – receptor será mejor cuanto mayor sea la energía libre de Gibbs en valor absoluto y negativa.

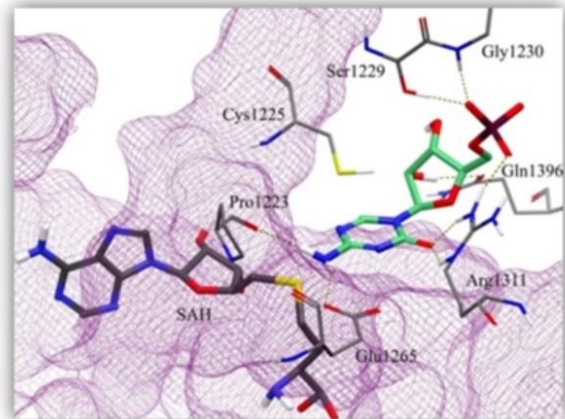
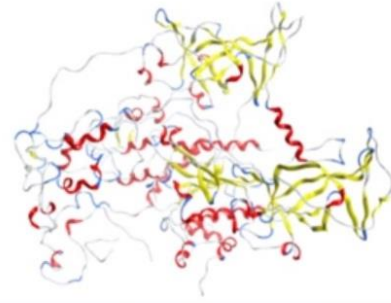
A continuación, se exponen 3 ejemplos (Ver Figuras 7, 8 y 9).



VIDAZA es el primer fármaco aprobado por la FDA para el tratamiento de síndromes mielodisplásicos (MDS)

NC1=NC(=O)N(C1)COP(=O)([O-])[O-]

VIDAZA®  
(Azacytidina)



Modelo de unión con DNMT

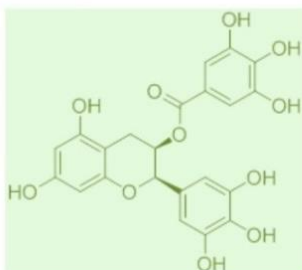
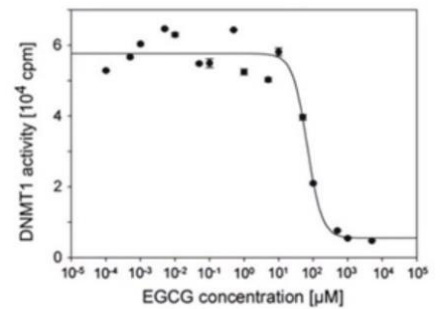
Figura 7. Ejemplo de un inhibidor de la DNA metiltransferasa (DNMT). A la izquierda, observamos la estructura de la Azacytidina (Vidaza). A la derecha, con los programas mencionados anteriormente, nos permite proponer una hipótesis sobre la interacción con la DNA metiltransferasa. Figura tomada de [16]



EGCG



EGCG inhibe a DNMT1



Modelo de unión con DNMT

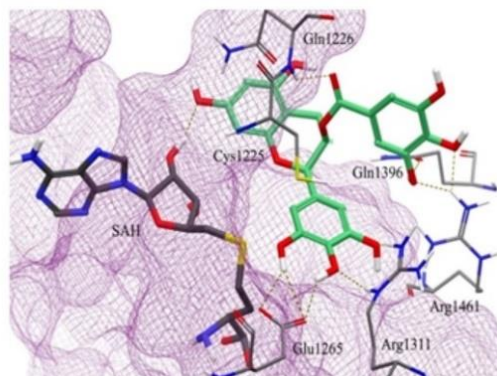


Figura 8. Otro ejemplo de inhibidor de la DNA metiltransferasa 1. El galato de epigallocatequina, (EGCG), compuesto natural del té verde, es otro inhibidor de la DNA metil transferasa 1. En la parte de la izquierda, se muestra su estructura, mientras que en la parte superior derecha vemos una gráfica de actividad del DNMT1 frente a la concentración de EGCG. Se observa que a medida que aumentamos la concentración de EGCG, disminuye la actividad de la DNA metil transferasa 1, lo que sugiere que la está inhibiendo. En la parte inferior derecha, se observa la interacción de dicho compuesto con el DNMT1 a partir de programas computacionales. Figura obtenida de [17]

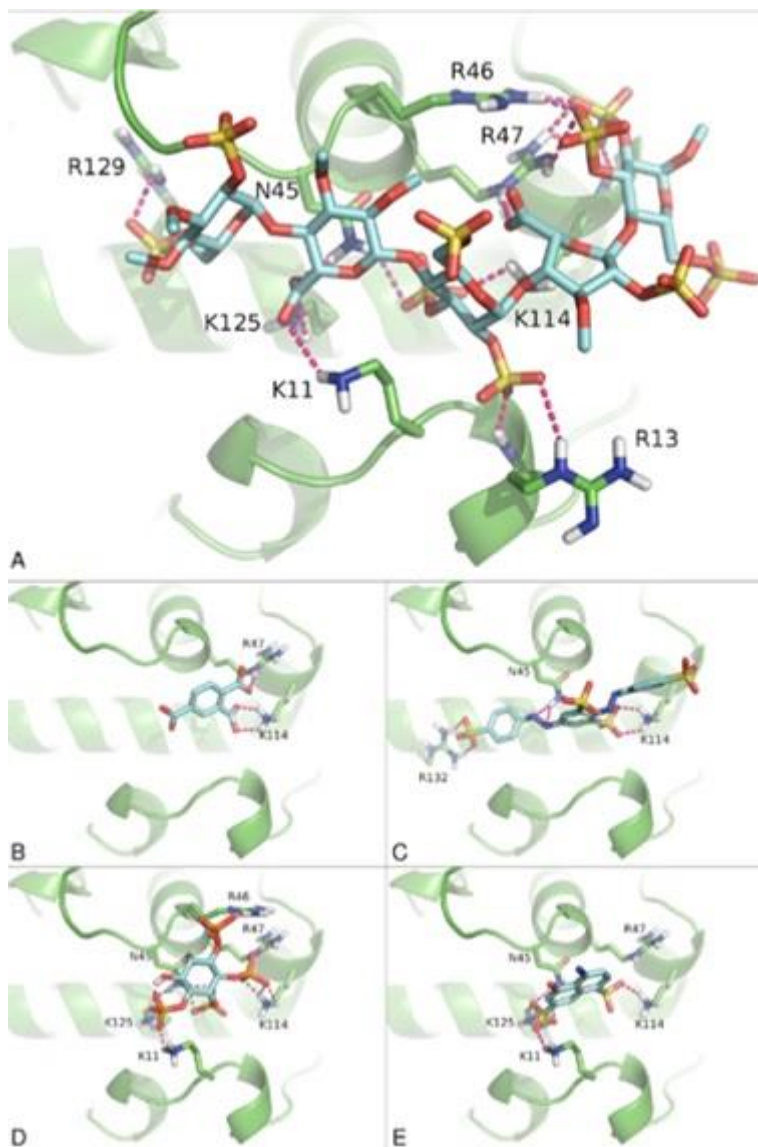


Figura 9. Representación de compuestos que se unen a la proteína antitrombina a partir de programas computacionales de docking. Estos cinco compuestos fueron (a) heparina; (b) ácido benceno 1,2,4-tricarboxílico; (c) 2,5-bis [(4-fenilsulfonato) diazenil] benceno –

*1,3-disulfonato tetrasódico; (d) D-myo-inositol 3,4,5,6-tetrakisfosfato (TMI); (e) 4-hidroxi-5-sulfonaftaleno-2,7-disulfonato disódico. Los puentes de hidrógeno se representan en color magenta. Figura tomada de [18].*

#### 4.-3c. 1) Elaboración del farmacóforo

El estudio e identificación de las interacciones de varios compuestos (docking) sobre una diana biológica en serie y superpuestas nos permite proponer un modelo de farmacóforo. El farmacóforo, definido por la IUPAC en 1998 como “conjunto de características estéricas y electrónicas que es necesario para asegurar la óptima interacción supramolecular con un blanco biológico específico y para activar/o bloquear su respuesta biológica” (Wermuth et al. 1998) citado por [19]. A través del estudio de los modelos de unión podemos realizar: 1) Mapeo de interacciones de docking en los átomos, 2) Generar sitios farmacofóricos, 3) Sumar las energías de los átomos correspondientes a los sitios farmacofóricos, 4) Realizar Ranking de los sitios de unión. A partir de esta información, podemos conocer si una nueva estructura puede tener interacción con una diana biológica. Se compara una estructura tridimensional de un nuevo compuesto, que podría cumplir con los elementos farmacofóricos y si es así, se realizan ensayos biológicos para conocer la actividad. [20] (Ver Figura 10)

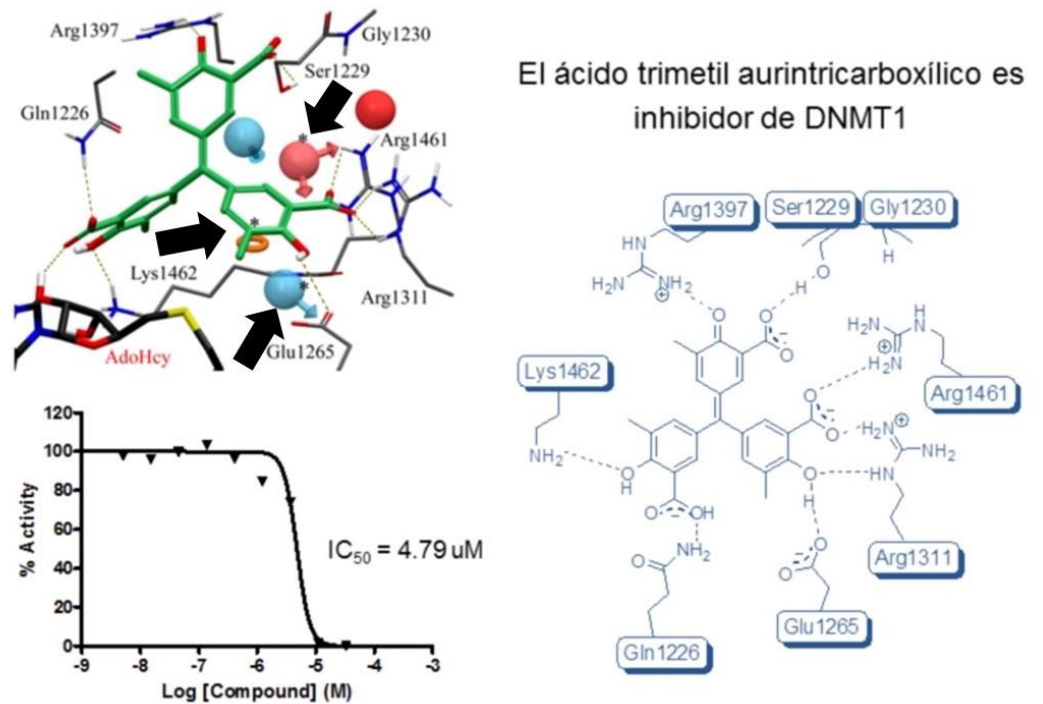


Figura 10. Ejemplo de inhibidor de DNMT. El ácido trimetil aurintricarboxílico es un inhibidor de DNMT1. En la parte superior izquierda, podemos observar que cumple con tres elementos farmacofóricos señalados con una flecha, comunes con los demás inhibidores. A la derecha, se muestra la estructura del ácido trimetil aurintricarboxílico. En la parte inferior izquierda, se realizó un estudio en el que se representa el porcentaje de actividad frente al logaritmo de la concentración del compuesto. Se vio que al aumentar la concentración del ácido trimetil aurintricarboxílico, disminuía la actividad del DNMT1. Se calculó la  $IC_{50}$ , que es la concentración necesaria para inhibir un 50 % la respuesta máxima. Se define como la concentración de un compuesto necesaria para reducir *in vitro* el crecimiento poblacional de organismos, incluidas las células eucariotas, en un 50 por ciento. [21] Es una medida de la potencia de una sustancia para inhibir una función biológica o bioquímica específica. Figura tomada de [22] con modificaciones.

#### 4.-3c. 2) Cribado virtual o ensayos in-silico (Virtual screening)

Antes de existir los recursos computacionales y las técnicas para realizar un diseño computacional o racional de medicamentos, los investigadores tuvieron que repetir un número exasperante de procedimientos de ensayo y error contra la proteína diana en sus laboratorios para probar algunos cientos de compuestos disponibles en bibliotecas

químicas. En cambio, el proceso de detección virtual consiste en seleccionar compuestos de grandes bases de datos mediante el uso de herramientas computacionales en lugar de seleccionarlos físicamente. A través de este proceso, los compuestos activos que podrían modular una ruta biomolecular particular se pueden identificar rápidamente. La relevancia de esta técnica es que la relación costo-beneficio justifica la presencia de este enfoque en casi cualquier proyecto de diseño y desarrollo de medicamentos [23].

El cribado se hace aplicando técnicas basadas en el receptor (acoplamiento molecular), en el ligando (estudios de similitud) o híbridas (modelo del farmacóforo); así podemos seleccionar los compuestos y generar 'hits' computacionales. Para realizar cribado virtual podemos usar estrategias distintas; desde las más rápidas e imprecisas, tales como las del modelo del farmacóforo, las de mediana precisión (docking), las de alta precisión (dinámica molecular) y por último las de muy alta precisión (métodos cuánticos). Otras veces se suele hacer el cribado virtual en cascada: a) se parte de millones de compuestos que se procesan por docking, se seleccionan 1000; b) se realiza dinámica molecular con esos 1000 y se seleccionan 10; c) se realizan cálculos mecánico cuánticos con los 10 restantes. [18]

#### 4.-4 Obtención del compuesto líder a partir de bases de datos de compuestos activos

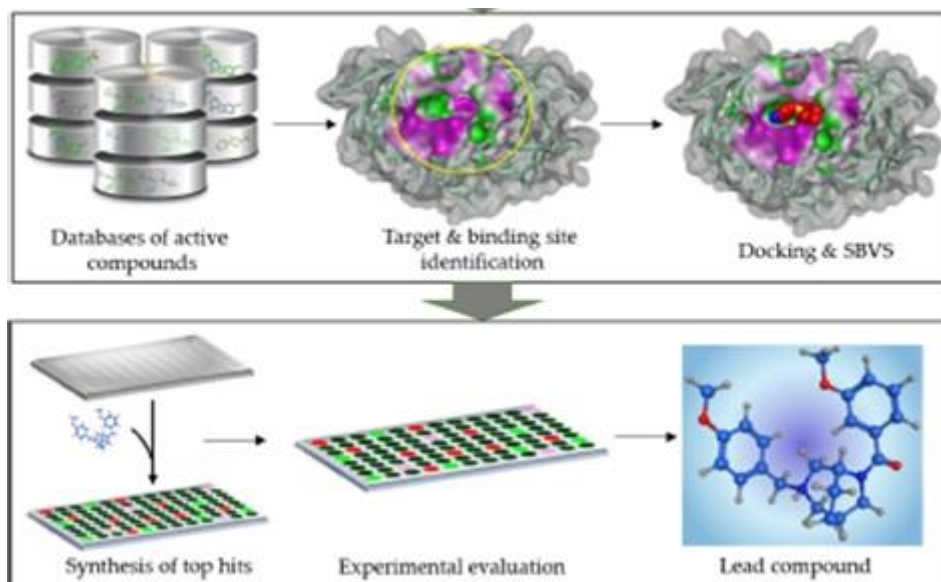


Figura 11. El panel superior representa el paso de compuestos activos obtenidos de bases de datos hacia la identificación de la proteína diana y sus lugares de unión. A continuación, se les realizará el 'docking' de los posibles 'hits' que se unirán y se extrapolará en búsqueda de otros



compuestos por las bases de datos. El panel inferior muestra la identificación del compuesto líder que ha sido obtenido, se sintetizará y se someterá a ensayos *in vitro*. Posteriormente, se podrán realizar modificaciones para optimizar dicho compuesto líder. Figura obtenida de [9].

Ejemplo de Cribado virtual de bibliotecas moleculares. Aplicación de docking, en la búsqueda de inhibidores de DNMT. (Ver Figura 12) y los estudios enzimáticos de los “hits” se muestran en la Figura 13. Estos compuestos podrían posteriormente ser desarrollados y optimizados.

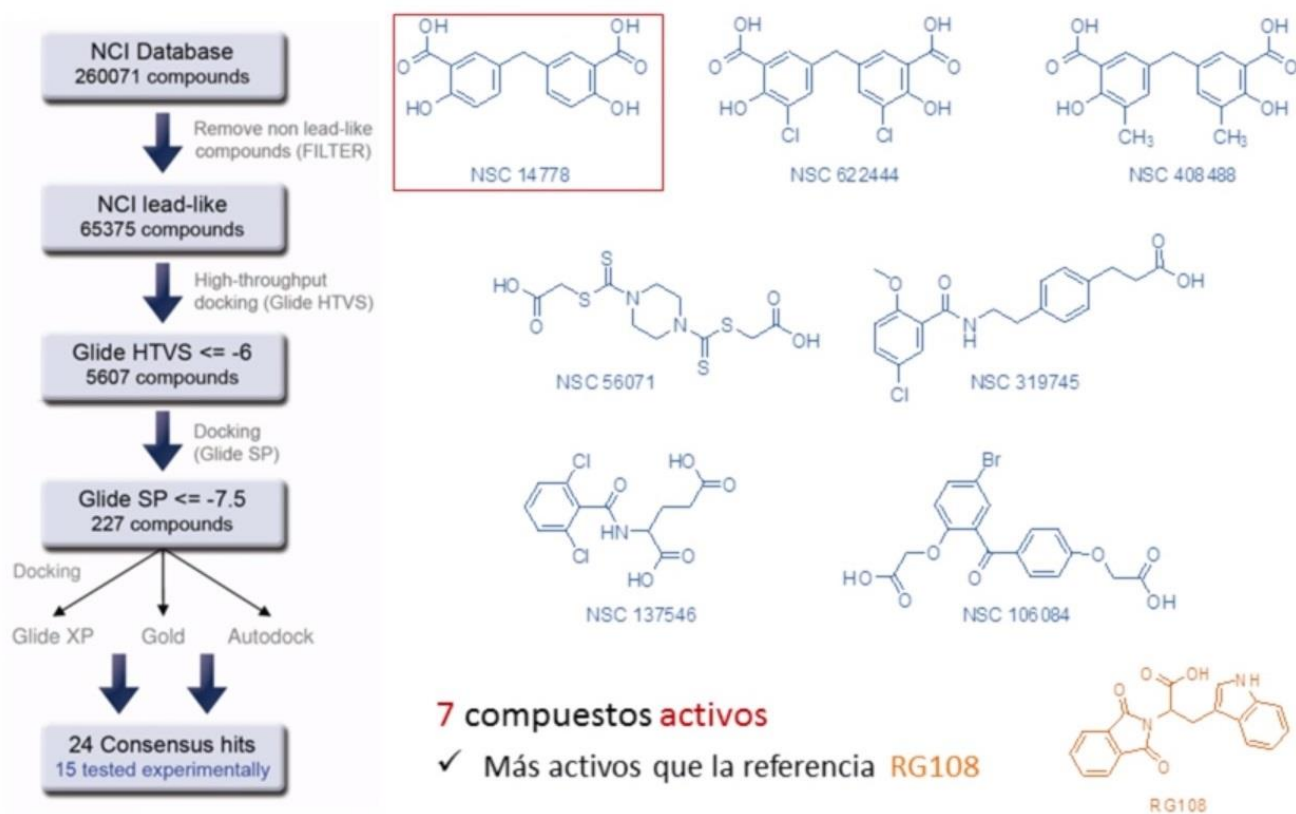


Figura 12. En la siguiente figura, se observa que a partir de una base de datos pública (NCI Database), seleccionamos los compuestos (esquema a la izquierda) realizando primero un filtrado rápido y luego un cribado virtual en cascada o en etapas basado en datos de docking y modelo del farmacóforo (docking/similitud molecular) en busca de otros compuestos que puedan poseer la misma actividad biológica. A través de sucesivos cribados, y utilizando programas computacionales como Docking, Autodock, Gold y Glide XP se obtuvieron 24

compuestos, de los cuales 15 estuvieron disponibles físicamente para realizar actividad biológica y, de ellos, 7 mostraron actividad (las estructuras químicas se muestran a la derecha); incluso mayor actividad que el control positivo RG 108. Figura tomada de [24].

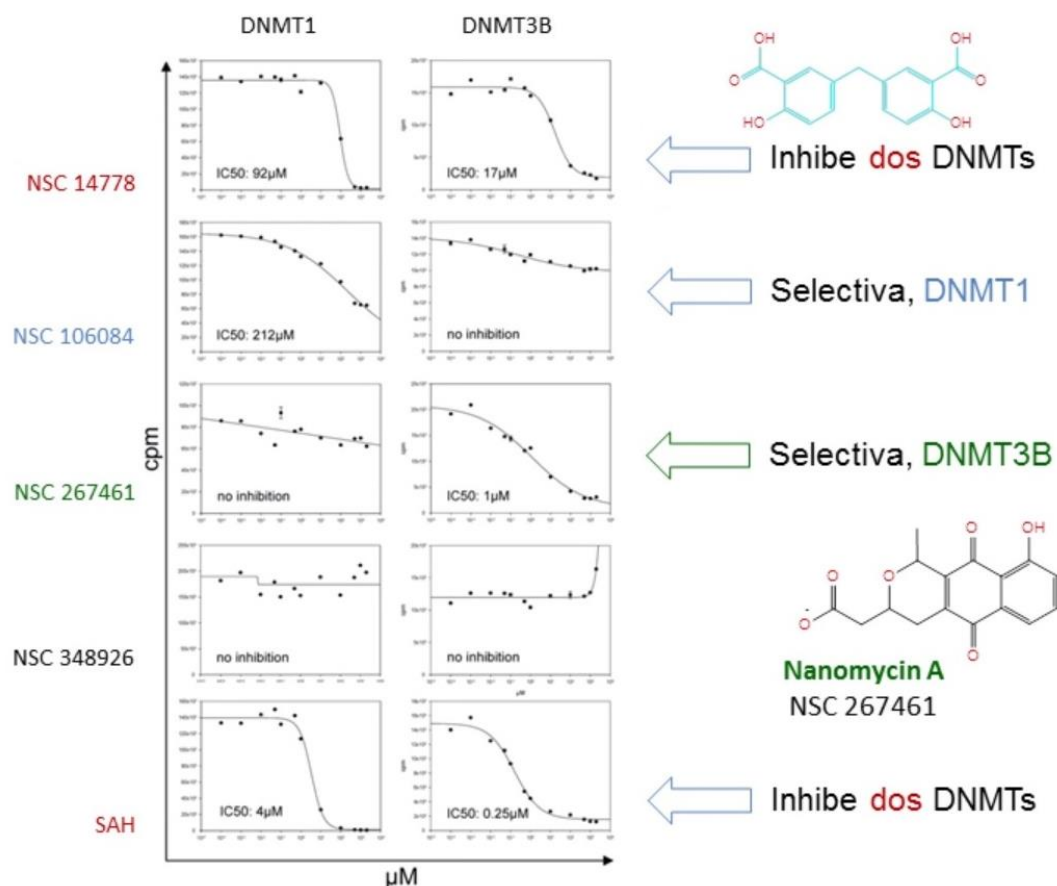


Figura 13. Evaluación enzimática de 'hits' seleccionados. Se realizó una evaluación enzimática de los 'hits' seleccionados con curvas dosis-respuesta. La familia de enzimas ADN metiltransferasa (DNMT) consta de cuatro miembros con diversas funciones y representa uno de los objetivos más prometedores para el desarrollo de nuevos fármacos contra el cáncer. Sin embargo, los medicamentos estándar para la inhibición de DNMT son análogos de citosina no selectivos con efectos secundarios citotóxicos considerables que se han desarrollado hace varias décadas. [25] El compuesto (NSC 14778) mostró actividad inhibitoria frente a dos DNMTs; NSC 106084 mostró selectividad a DNMT 1; NSC 267461 fue selectivo para DNMT3B (Nanaomycina A un compuesto natural) y por último SAH (S-adenosyl-l-homocysteine) también inhibió a ambas DNMTs. Por el contrario, NSC 348926 careció de efectos en ambos casos. Figura obtenida de [24] con modificaciones.

Después de los ensayos bioquímicos se estudia la actividad biológica del ‘hit’ seleccionado de forma individual (en este caso la nanaomicina A). Para ello se utilizaron tres líneas celulares distintas determinando el nivel de metilación en el genoma. Los resultados se muestran en la Figura 14.

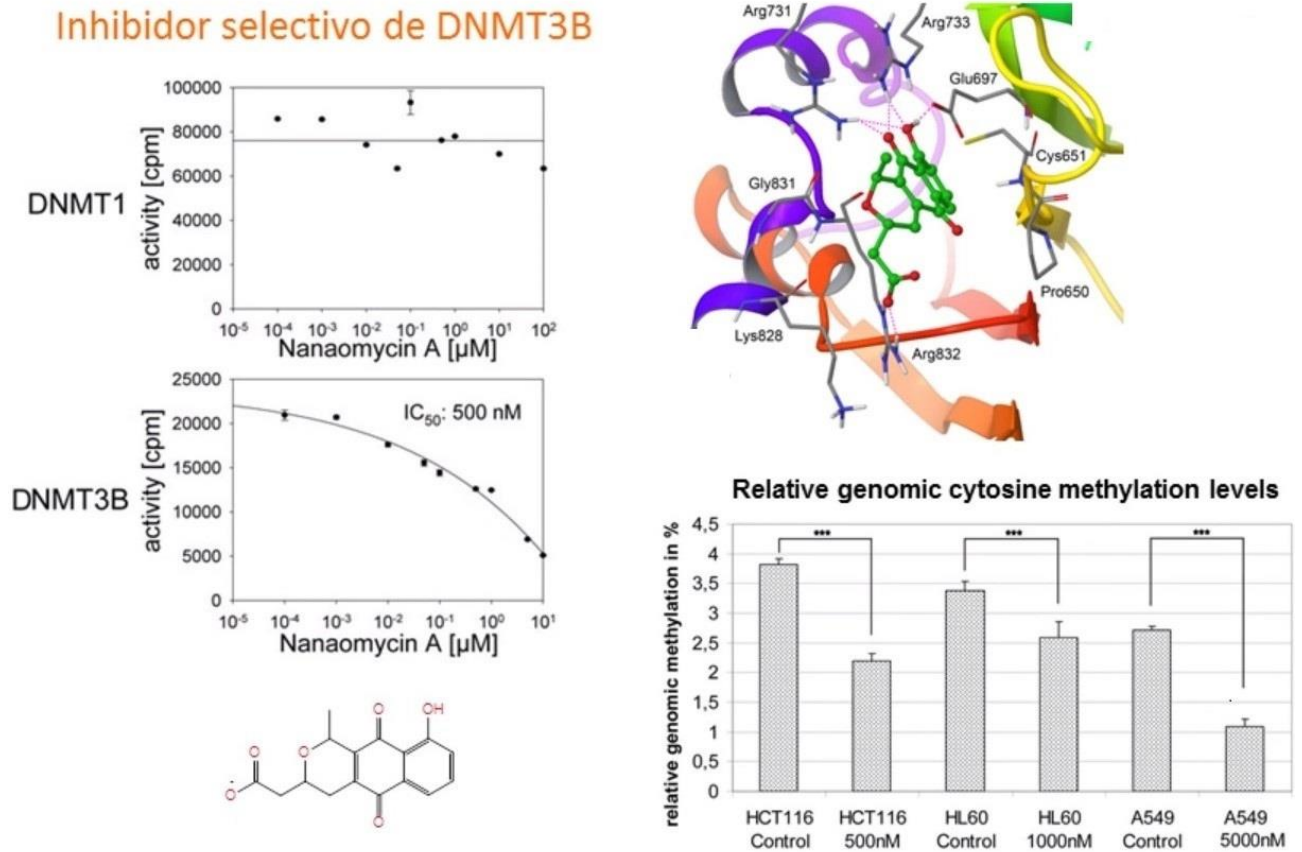


Figura 14. Actividad de Nanaomicina A. En la parte izquierda, se observa que el compuesto seleccionado inhibe de forma selectiva la DNA metil transferasa 3B, obteniéndose el  $IC_{50} = 500$  nM. En la parte superior derecha, se representa la unión de la Nanaomicina A con la DNMT 3B. El compuesto mostró una capacidad de desmetilación en las tres líneas celulares (HCT116, HL60, A459) como se observa en el gráfico inferior derecho, en los que la metilación disminuye significativamente frente a los controles. El modelo de unión sugiere la hipótesis de que la Nanaomicina A se trata de un inhibidor suicida. Figura obtenida de [25] con modificaciones.

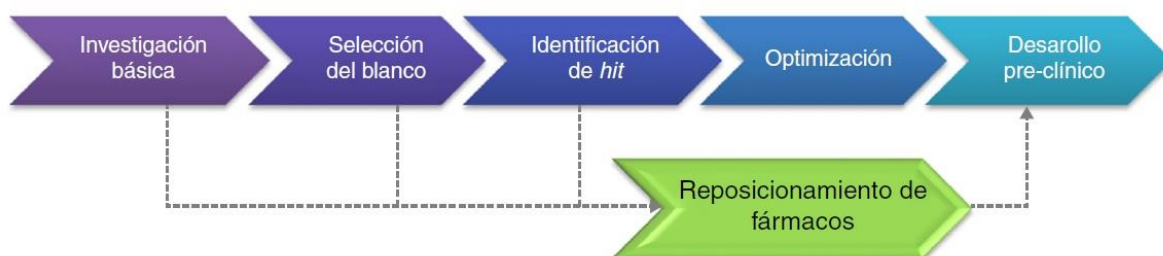
#### 4.-5. Quimiogenómica, polifarmacología y reposición de fármacos

La quimiogenómica confronta las grandes macromoléculas (proteínas y sus variantes) con las pequeñas moléculas (naturales o sintéticas). Las segundas pueden afectar a las

primeras, regulando su estructura y actividad, en acciones de enorme interés biológico y biotecnológico-biomédico. Por definición, la quimiogenómica es el estudio de la respuesta genómica y/o proteómica de un sistema biológico intacto a compuestos químicos, o la capacidad de objetivos moleculares aislados para interactuar con dichos compuestos. [26]

En la quimiogenómica computacional se busca realizar un screening sistemático y a gran escala de pequeñas moléculas de familias de dianas terapéuticas tales como receptores acoplados a proteínas G, receptores nucleares, quinasas, peptidasas, etc. con el fin de obtener compuestos que se unan a dianas celulares biológicas. [27] Si estas moléculas se unen a múltiples dianas, estaríamos hablando de polifarmacología. Por tanto, uno de los objetivos sería buscar “llaves maestras” que interactúen con varias dianas biológicas deseadas, pero no con otras que puedan producir efectos adversos no deseados.

El reposicionamiento de fármacos consiste en buscar un uso alternativo a la indicación original de un fármaco que está en el mercado. Se puede realizar por métodos experimentales y computacionales. (Ver Figura 15)



*Figura 15. Etapas en el reposicionamiento de fármacos. Por ejemplo, podríamos comparar la estructura química de un inhibidor de DNMT con cada uno de 1400 fármacos aprobados para el uso clínico y almacenados en bases de datos. Si encontramos compuestos con estructura similares a nuestro inhibidor conocido, podríamos tener actividades similares. Uno de los compuestos que se encontró, fue la olsalazina (antiinflamatorio), que tenía un alto parecido estructural al inhibidor de referencia, y se vio que podría ser un nuevo agente hipometilante, anticancerígeno. [28] En la figura 15 se muestran las etapas del proceso. Figura de [14]*

#### 4.-6. Algunos de los programas informáticos que se utilizan en el CADD.

Algunos de los programas informáticos más utilizados para los distintos métodos computacionales se ven reflejados en la Tabla 4.

Tabla 4. Herramientas informáticas disponibles para CADD (tomada de [5] con modificaciones)

<u>Métodos computacionales</u>	<u>Programas informáticos disponibles para su estudio</u>
Modelos de homología	Insight, Prime, LOOK, Sybyl, -DS Modeller, Prime, LOOK, ICM, Sybyl, MODELLER, MOE, SWISS-MODEL, Raptor X, LOMETS, Phyre, I-Tasser
Predicción del lugar de unión al centro activo	CASTp, POOL, PASS, Pocket-Finder, 3DLigandSite, LIGSITE, meta Pocket, FINDSITE, Site-hound
Sistema gráfico molecular	Avogadro, Chemlab, Athena, Maestro, Jmol, PyMOL, UCSF chimera, VMD, Vimol, Webmol, Zeus
Bases de datos de cribado virtual	PubChem, MMsINC, ZINC, ZincPharmer, 4SC Discovery, therapeutic target database, drug Bank, ChemSpider, ChEMBL
Software de Docking	PyRx, Autodock Vina, Dock Blaster, Vis3d, Schrodinger, GOLD, Libdock, FlexX, Glide, Fred, ICM
Software de simulación dinámica molecular	Gromacs, Amber, CHARM, Gromos, ADF, Desmond, NWChem

## 5.- Discusión y Conclusiones

En esta revisión bibliográfica sobre el diseño de fármacos, podemos concluir que el avance en las tecnologías facilita mucho el proceso; tanto a nivel del conocimiento de las dianas terapéuticas y su estructura, como a la caracterización de las interacciones entre las moléculas y las proteínas. El rendimiento de los métodos depende de la proteína diana, la base de datos disponible y los recursos de los que se dispongan. Este proceso exige un nivel computacional altísimo para obtener al final del proceso una única molécula que sea lo suficientemente eficaz y segura como para ser comercializada como fármaco.

Con el considerable incremento del número de dianas farmacológicas, los métodos computacionales tanto como los métodos de predicción de estructuras de proteínas, cribado de alto rendimiento virtual y los métodos de acoplamiento molecular, han aumentado la velocidad del proceso del descubrimiento de fármacos y son regularmente usados en la industria farmacéutica.

Este abordaje es el convencional y ahora es una parte valiosa en el descubrimiento de fármacos que han mostrado éxito. El proceso es barato y rápido para predecir y seleccionar gran cantidad de moléculas de forma computacional para ser optimizadas, a partir del filtrado de grandes cantidades de moléculas en las bases de datos. El diseño de fármacos basado en la estructura o en el ligando es un método que permite unos grandes avances en la terapéutica.

Sólo las moléculas que puedan tener la actividad biológica deseada, serán analizadas in vitro. Esto ahorra costo y tiempo porque reducen el número de compuestos sin éxito que podrían ser analizados in vitro.

El campo de CADD está continuamente desarrollándose con mejoras que están siendo realizadas en cada una de las áreas. Algunas de las áreas enfocadas son funciones de puntuación, búsqueda de algoritmos para el acoplamiento molecular y cribado virtual, optimización de hits y evaluación de las propiedades ADMET para posibles fármacos candidatos. Con los actuales recursos, hay un prometedor futuro para los métodos computacionales para ayudar en el descubrimiento de muchos más fármacos en el futuro. [5]

## 6.- Bibliografía

- [1] Desarrollo de fármacos. En: Lubert Stryer, Jeremy M. Berg, John L. Tymoczko. Bioquímica con aplicaciones clínicas, 7ª ed. Barcelona: Reverté; 2012. p. 1029–1050
- [2] David Valero. La controvertida historia del descubrimiento de la artemisina: el antimalárico más efectivo del planeta. [Internet] [Actualizado 26 de junio de 2018, Consultado 4 de julio de 2019]. InspiraBiotech. Disponible en: <https://inspirabiotech.com/2018/06/26/la-controvertida-historia-del-descubrimiento-de-la-artemisinina-el-antimalarico-mas-efectivo-del-planeta/>
- [3] R. Pouplana, X. Barril y F. J. Luque. Química computacional en diseño de fármacos. LifeSciencesLab [Internet]. 2009 [Consultado 29 de abril de 2019]; p. 28-31 Disponible en: [www.xrqtc.com/wp-content/uploads/2014/07/articlemarchLSL.pdf](http://www.xrqtc.com/wp-content/uploads/2014/07/articlemarchLSL.pdf)
- [4] Fernanda Saldívar-González, Fernando D. Prieto-Martínez y José L. Medina-Franco, Descubrimiento y desarrollo de fármacos: un enfoque computacional. Ed Quím [Internet] 2017 [Consultado 29 de abril de 2019]; 28: p. 51-58 Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0187893X16300301>
- [5] A. Jainul Fathima, G. Muruga Boopathi, P. Selvam. Computational Approaches in Drug Discovery: An Overview. Int J of Adv Res and Sci and Eng [Internet] 2017 [Consultado 1 julio 2019]; 6 (07): p. 189-195, Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/319036203\\_Computational\\_Approaches\\_in\\_Drug\\_Discovery\\_An\\_Overview](https://www.researchgate.net/publication/319036203_Computational_Approaches_in_Drug_Discovery_An_Overview)
- [6] Dr. C. Jorge Victor Gavilondo Cowley. Los caminos de un fármaco antitumoral. Rev Cub Sal Púb [Internet] 2014 [Consultado 29 julio 2019] 40 (2) Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-34662014000200006](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-34662014000200006)
- [7] Academia Europea de Pacientes (EUPATI). [Internet]. [Actualizado 9/11/2016] [Consultado 7 julio de 2019]. Disponible en: <https://www.eupati.eu/es/glossary/fase-clinica/>
- [8] Subha Kalyaanamoorthy, Yi-Ping Phoebe Chen. Structure-based drug design to augment hit discovery. Drug Disc Tod [Internet] 2011 [Consultado 30 julio 2019]; 16 (17/18): p. 831-839 Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21810482>

- [9] Maria Batool, Bilal Ahmad, Sangdun Choi. A Structure-Based Drug Discovery Paradigm. *Int. J. Mol. Sci.* [Internet] 2019 [Consultado 28 julio 2019]; 20 (11): p. 1-18 Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6601033/>
- [10] Carolina L. Bellera, Alan Talevi, Luis E. Bruno-Blanch. Aplicación de Análisis Lineal Discriminante en la Búsqueda de Drogas Antiepileptogénicas. *Lat. Am. J. Pharm.* [Internet] 2007 [Consultado 30 julio 2019]; 26 (2): p. 244-252 Disponible en: [http://www.latamjpharm.org/trabajos/26/2/LAJOP\\_26\\_2\\_1\\_12\\_OC6M9581L0.pdf](http://www.latamjpharm.org/trabajos/26/2/LAJOP_26_2_1_12_OC6M9581L0.pdf)
- [11] Apuntes de Química Farmacéutica I de la Universidad de la Laguna (ULL), Manuel Norte. 2018. [Consultado 10 agosto 2019]
- [12] Jorge Lozano-Aponte, Thomas Scior. ¿Qué sabe Ud. acerca de...QSAR?, *Rev Mex Cienc Farm* [Internet] 2012 [Consultado 10 agosto 2019]; 43(2): p.82-84 Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmcf/v43n2/v43n2a10.pdf>
- [13] Wikipedia. [Internet] [Actualizado 5 agosto 2019, Consultado 11 de agosto de 2019] Disponible en: [https://es.wikipedia.org/wiki/Qu%C3%ADmica\\_combinacional](https://es.wikipedia.org/wiki/Qu%C3%ADmica_combinacional)
- [14] José L. Medina-Franco, Eli Fernández-de Gortari y J. Jesús Naveja, Avances en el diseño de fármacos asistido por computadora. *Ed Quím* [Internet] 2015 [Consultado 1 julio 2019]; 26(3): p. 180-186. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0187893X15000294>
- [15] Lorena Meneses, Sebastian Adolfo Cuesta. Determinación Computacional de la Afinidad y Eficiencia de Enlace de Antiinflamatorios No Esteroides Inhibidores de la Ciclooxygenasa-2. *REMCB* [Internet] 2015 [Consultado 30 julio 2019]; 36 (2): p. 17-25 Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6362855>
- [16] Jakyung Yoo, Joo Hee Kim, Keith D. Robertson, José L. Medina-Franco. Molecular Modeling of Inhibitors of Human DNA Methyltransferase with a Crystal Structure: Discovery of a Novel DNMT1 inhibitor. *Adv Protein Chem Struct Biol* [Internet] 2012 [Consultado 10 agosto 2019]; 87: p. 219-247 Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22607757>
- [17] Medina-Franco JL, Méndez-Lucio O, Yoo J, Dueñas-González A. Discovery and development of DNA methyltransferase inhibitors using in silico approaches. *Drug Disc Tod* [Internet] 2015 [Consultado 10 agosto 2019]; 20(5): p. 569-577. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25526932>



[18] José Manuel López Nicolás. ¿Puede el Premio Nobel de Química 2013 salvarte la vida? [Internet] [Actualizado 24 octubre 2013, Consultado 4 julio de 2019]. ScientiaBlog Disponible en: <https://scientiablog.com/2013/10/24/puede-el-premio-nobel-de-quimica-2013-salvarte-la-vida/>

[19] Maldonado Rojas W., K. Noguera Oviedo, J. Olivero Verbel. Acoplamiento inverso y mapeo de farmacóforo como herramientas para encontrar nuevos blancos farmacológicos de compuestos naturales. Rev. Acad. Colomb. Cienc. [Internet] 2012 [Consultado 5 agosto 2019]; 36 (140): p. 411-420 Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/racefn/v36n140/v36n140a07.pdf>

[20] Yoo J, Medina-Franco JL. Homology modeling, docking and structure-based pharmacophore of inhibitors of DNA methyltransferase. J Comp-Aided Mol Des [Internet] 2011 [Consultado 2 agosto 2019]; 25(6): p. 555-567 Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21660514>

[21] Biblioteca virtual en salud bvs, Descriptores en ciencias de la salud DeCS [Internet] [Consultado 7 de julio de 2019] Disponible en: [http://decs.bvs.br/cgi-bin/wxis1660.exe/decserver/?IsisScript=../cgi-bin/decserver/decserver.xis&task=exact\\_term&previous\\_page=homepage&interface\\_language=e&search\\_language=e&search\\_exp=IC50](http://decs.bvs.br/cgi-bin/wxis1660.exe/decserver/?IsisScript=../cgi-bin/decserver/decserver.xis&task=exact_term&previous_page=homepage&interface_language=e&search_language=e&search_exp=IC50)

[22] Yoo J, Medina-Franco JL. Trimethylaurintricarboxylic acid inhibits human DNA methyltransferase 1: insights from enzymatic and molecular modeling studies. J Mol Model [Internet] 2011 [Consultado 2 agosto 2019]; 18(4): p. 1583-1589 Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21805123>

[23] Diego Prada-Gracia, Sara Huerta-Yépez, Liliana M. Moreno-Vargas. Application of computational methods for anticancer drug discovery, design, and optimization. Bol Med Hosp Infant Mex. [Internet] 2016 [Consultado 12 agosto 2019]; 73(6): p. 411-423 Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-boletin-medico-del-hospital-infantil-401-articulo-application-computational-methods-for-anticancer-S1665114616301411>

[24] Kuck D, Singh N, Lyko F, Medina-Franco JL. Novel and selective DNA methyltransferase inhibitors: Docking-based virtual screening and experimental evaluation. Bioorg and Med Chem [Internet] 2010 [Consultado 2 agosto 2019]; 18(2) p.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0968089609010682?via%3Dihub>

[25] Kuck D, Caulfield T, Lyko F, Medina-Franco JL. Nanaomycin A selectively inhibits DNMT3B and reactivates silenced tumor suppressor genes in human cancer cells. *Mol Can Ther* [Internet] 2010 [Consultado 2 agosto 2019]; 9(11): p. 3015-3023 Disponible en: <https://mct.aacrjournals.org/content/9/11/3015>

[26] Markus Bredel, Edgar Jacoby. Chemogenomics: an emerging strategy for rapid target and drug discovery. *Nat Rev Gen* [Internet] 2004 [Consultado 14 agosto 2019]; 5: p. 262–275 Disponible en: <https://www.nature.com/articles/nrg1317?proof=true>

[27] Wikipedia. [Internet] [Actualizado 9 de julio de 2019, Consultado 11 de agosto de 2019] Disponible en: <https://es.wikipedia.org/wiki/Quimiogen%C3%B3mica>

[28] Mendez-Lucio O, Tran J, Medina-Franco JL, Meurice N, Muller M. Toward drug repurposing in epigenetics: olsalazine as a hypomethylating compound active in a cellular context. *ChemMedChem* [Internet] 2014 [Consultado 3 agosto 2019]; 9(3): p. 560-565 Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24482360>

[29] Helen E. Guerrero-Arellano, José A. Caicedo-Salazar, Erick O. Guerrero-Zambrano. La Nanotecnología farmacéutica es una realidad. *Dom. Cien.* [Internet] 2017 [Consultado 15 agosto 2019]; 3(2): p. 526-538 Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6325874>

[30] Villafuerte-Robles, Leopoldo. Nanotecnología Farmacéutica. *Raz y Pal* [Internet] 2009 [Consultado 15 agosto 2019]; 68: p. 1-20 Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3101846>

[31] Pablo Bonilla Valladares. Nanotecnología aplicada a la industria farmacéutica. Quito. FEFAS [Internet] 2014 [Consultado 15 agosto de 2019]. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/270904665\\_NANOTECNOLOGIA\\_APLICADA\\_A\\_LA\\_INDUSTRIA\\_FARMACEUTICA](https://www.researchgate.net/publication/270904665_NANOTECNOLOGIA_APLICADA_A_LA_INDUSTRIA_FARMACEUTICA)

## Anexos

### Perspectivas de futuro

Los avances en áreas de la ciencia como la biología, la química y la medicina, así como en la tecnología, hacen que el presente y el futuro de la farmacología se vean favorecidos por el estudio del genoma humano y la nanotecnología.

La finalización de la secuencia del genoma humano y de otros organismos constituye una herramienta importante para el futuro del diseño de nuevos fármacos. Así, se podrían identificar nuevas posibles dianas en el proteoma humano. El genoma humano codifica aproximadamente unas 25.000 proteínas, que muchas de ellas podrían ser dianas de nuevos fármacos, particularmente aquellas que son enzimas o dianas o tienen efectos significativos cuando se activan o inhiben. Por ejemplo, (a) el genoma humano incluye más de 500 proteínas quinasas que pueden ser reconocidas al comparar sus secuencias de aminoácidos. Muchas de ellas tienen un papel fundamental en el desarrollo de algunas enfermedades. La quinasa Bcr-Abl, una quinasa desregulada generada por un defecto cromosómico específico, está relacionada con algunas leucemias y es la diana del fármaco mesilato de imitinib. (b) Los estudios en ratones proporcionan la capacidad de desactivar (knock out) genes específicos. Si con la desactivación de estos genes se consigue el efecto deseado, podrían ser una buena diana farmacológica y (c) otra estrategia sería secuenciar genomas de cientos de patógenos para utilizarlas como dianas biológicas. Se podrían sintetizar nuevos antibióticos para combatir las resistencias que existen hoy en día. En el tratamiento del cáncer o enfermedades infecciosas algunos fármacos se vuelven menos eficaces con el tiempo, debido a que una persona afectada contiene muchas células (o virus) que pueden mutar y reproducirse. Estas células podrían tener una variación genética que las hicieran más adecuadas para el crecimiento y reproducción en presencia de un fármaco.

Ejemplos de esta resistencia a fármacos tenemos: bacterias que son resistentes a las  $\beta$ -lactamas como la penicilina, ya que contienen enzimas llamadas  $\beta$ -lactamasas, que hidrolizan el anillo  $\beta$ -lactámico e inactivando al fármaco. Muchas de estas enzimas están codificadas por plásmidos que son transferidos de una célula bacteriana a otra, contribuyendo a la resistencia a antibióticos. Así mismo, también aparecen en

tratamiento contra el cáncer, ya que las células cancerígenas son capaces de crecer a gran velocidad sin las restricciones que suelen tener las células normales. Existen muchos fármacos que inhiben el crecimiento de estas células. Hay células cancerosas que acumulan cambios genéticos para resistir el efecto de los fármacos, lo que hace que un desafío sería el desarrollo de inhibidores de proteínas específicos de células cancerosas presentes en ciertas leucemias. Como el caso de pacientes con leucemia que se trata con mesilato de imatinib, dirigido contra la quinasa Bcr-Abl, los tumores desaparecen, pero reaparecen después de varios años debido a que hay mutaciones en la proteína Bcr-Abl. Otro caso es la resistencia múltiple a fármacos que podría deberse a la proliferación de células cancerosas que sobreexpresan un número de proteínas de transporte ABC, que bombean el fármaco fuera de la célula. [1]

Desde el punto de vista del desarrollo en la tecnología, destaca la nanotecnología que es “el estudio, diseño, creación, síntesis, manipulación y aplicación de materiales, aparatos y sistemas funcionales a través del control de la materia a nanoescala, tamaño entre 1 y 100 nm, mediante la explotación de fenómenos y sus propiedades”. [29]

La importancia de la nanotecnología farmacéutica para la terapia con fármacos reside en la posibilidad de suministrar tanto fármacos de bajo peso molecular, así como macromoléculas como los péptidos, proteínas y genes, de manera localizada o dirigida, hacia un cierto tejido de interés. La nanotecnología farmacéutica se enfoca al desarrollo de formulaciones de agentes terapéuticos en nano-complejos biocompatibles entre los que se cuentan las nanopartículas, las nano-cápsulas, los sistemas micelares, los dendrímeros, los fulerenos o nanoestructuras de carbono, las huellas cuánticas, los nanocomponentes derivados de la bioimitación o biomimética y los productos conjugados derivados de los anteriores. Estos sistemas se podrían utilizar para dar dirección al suministro de los fármacos, hacia un tipo de células o tejido específicos. También se podrían utilizar para mejorar la biodisponibilidad oral mejorando la capacidad para atravesar las barreras biológicas como la piel, mucosas a nivel gastrointestinal, respiratoria o la barrera hematoencefálica, para sostener el efecto de fármacos o genes en un tejido seleccionado. Otra aportación sería para solubilizar fármacos para una administración intravascular y para mejorar la estabilidad de los agentes terapéuticos contra la degradación enzimática de las nucleasas y proteasas,

especialmente en el caso de los fármacos en forma de proteínas, péptidos y ácidos nucleicos. Otra ventaja sería poseer una capacidad para controlar la liberación de la molécula activa en su lugar de acción o de absorción. [29] [30] Un ejemplo aplicado es que en 2005, la FDA aprobó el Abraxane (principio activo paclitaxel) un fármaco intravenoso para la terapia del cáncer, formada por nanopartículas de albúmina de 130 nm de tamaño. Esta formulación ofrece ventajas tales como disminución de toxicidad debido a la presencia de surfactantes que mejoran la eficacia en la liberación y la concentración del fármaco. [31]