



ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **QuímicaViva**

Número 3, año 6, diciembre 2007

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

Diseño racional de drogas: en busca de la droga ideal

Esteban L. Ravaschino

Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Universidad de Buenos Aires. Intendente Güiraldes 2160 - Ciudad Universitaria - C1428EGA
estebanr@qo.fcen.uba.ar

Recibido: 20/12/07

Aceptado: 26/12/07

Resumen

En este trabajo se presenta una breve reseña de los orígenes del descubrimiento de drogas y de la química medicinal. Asimismo, se analizan las estrategias modernas para la búsqueda de nuevas drogas y el desarrollo del diseño racional como resultado del conocimiento adquirido en distintas áreas de la ciencia y tecnología actuales.

Abstract

Rational drug design: searching for the ideal drug

This work briefly summarizes the origin of drug discovery and Medicinal Chemistry. Also, modern strategies for new drug finding are analyzed, as well as development of rational drug design as a result of acquired knowledge in several science and technology areas.

Palabras clave

Química medicinal – diseño racional – blanco molecular – screening

Key Words

Medicinal Chemistry – Rational drug design – molecular target – drug screening

Química Medicinal

La química medicinal surgió como especialidad durante las últimas décadas del siglo pasado y concierne, según la definición oficial de la IUPAC, al "descubrimiento, desarrollo, identificación e interpretación del modo de acción de un compuesto biológicamente activo al nivel molecular. El interés está puesto principalmente en la droga, aunque también concierne a la química medicinal el estudio, identificación y síntesis de productos metabólicos de drogas y compuestos relacionados". Sin embargo, el nacimiento de la especialidad tiene un origen más lejano: la medicina se ha valido de la química desde los tiempos más remotos o, al menos, desde que la alquimia se transformó en química. El puntapié inicial lo dio el farmacéutico francés Charles Louis Cadet de Gassicourt, quien, en la edición inaugural del *Bulletin de Pharmacie* (1809), sugirió que el uso de preparaciones complejas debía ser abolido en favor del de sustancias puras, las cuales deberían ser estudiadas y clasificadas debidamente. Así fue cómo, de la mano del desarrollo de la química orgánica, se aislaron los primeros principios activos a partir de plantas, entre 1815 y 1820.

Descubrimiento

Una vez que se hubo establecido que la actividad biológica de cualquier extracto vegetal, animal o mineral era causada en todos los casos por una sustancia química, el proceso de aislamiento, purificación e identificación de dicho principio activo se convirtió en fuente de descubrimiento de numerosas drogas desde el siglo XIX hasta la actualidad. Ya en 1805 Friedrich Serturmer aisló morfina a partir de opio, identificándola como el compuesto responsable de la acción de dicha planta. Otros alcaloides, actualmente muy conocidos, como la cafeína, la codeína, la atropina y la papaverina, entre otros, fueron aislados entre 1819 y 1848. Sin embargo, no fue hasta 1870 en que la primera estructura química de un alcaloide (coniína) fue elucidada por Schiff. Otros ejemplos de drogas extraídas de la naturaleza son la gramicidina, primer antibiótico extraído de bacterias del suelo; la insulina, purificada de extractos pancreáticos animales; y el ácido salicílico, analgésico extraído por primera vez de la corteza del sauce, y antecesor de la muy exitosa aspirina (ácido acetilsalicílico).

De esta forma fue como, hacia fines del siglo XIX, los avances en los conocimientos en química orgánica abrieron nuevas posibilidades para la búsqueda de compuestos biológicamente activos. El conocimiento de la estructura química de los principios activos aislados de plantas y el desarrollo de la síntesis orgánica permitieron a los químicos realizar búsquedas sistemáticas de compuestos con una actividad determinada. Obteniendo sintéticamente dichos compuestos cuya estructura se basaba en el conocimiento de la actividad de una molécula conocida, proveniente de una fuente natural, se encararon los primeros trabajos de búsqueda sistemática. Esto era, sin ir más lejos, el comienzo del estudio de relaciones de estructura-actividad, hoy conocido como SAR (*structure-activity relationship*).

Cabe destacar en este punto la contribución de la industria farmacéutica con su mayor capacidad de inversión y de mano de obra que la académica para este tipo de proyectos. Podemos citar como un ejemplo importante la modificación extensiva de rifamicinas, metabolitos

naturales de la bacteria *Amycolatopsis mediterranei*, llevada a cabo por los laboratorios Lepetit, que llevó al descubrimiento de la rifampicina en 1967.

Otra fuente de descubrimiento muy importante es el azar, que no puede ser menospreciado, ya que representa a la abrumadora mayoría de los descubrimientos de drogas a lo largo del siglo XX. Además de la muy conocida historia de la penicilina, descubierta por Alexander Fleming en 1928, existen numerosos ejemplos, como el caso del Librium®, descubierto por Leo Sternbach. Éste, mientras trabajaba en la síntesis de benzodiazepinas para la farmoquímica Hoffmann-La Roche, “redescubrió” un compuesto sobre el que había estado trabajando, y el cual, tras haber sido abandonado por un largo tiempo, había sufrido un reordenamiento en su estructura química dando lugar a un potente tranquilizante. El cisplatino, un potente antitumoral, fue descubierto en 1965 por un grupo de biofísicos mientras estudiaban el efecto del pasaje de corriente eléctrica por cultivos de *Escherichia coli*. Los investigadores observaron que este compuesto (*cis*-diaminodicloroplatino), que se formaba a partir de los electrodos de platino, inhibía la división celular en dichos cultivos. De la misma manera, la actividad antidepresiva del litio fue descubierta cuando se lo incorporó como contra-anión del urato para mejorar la solubilidad en agua del ácido úrico mientras se estudiaba el metabolismo de dicho ácido en maniáticos depresivos. Los edulcorantes –la sacarina, el ciclamato y el aspartamo– fueron descubiertos accidentalmente por químicos que probaron su gusto al tocarse la boca o fumar un cigarrillo luego de haberse ensuciado las manos con estos compuestos. En fin, la lista de casualidades y descubrimientos es bien larga.

Evolución en el descubrimiento de drogas

A medida que avanzaba el siglo XX se fueron desarrollando áreas nuevas de investigación, como la biología molecular, la simulación asistida por computación y los métodos espectroscópicos. Todas estas áreas proveyeron herramientas extremadamente útiles para la búsqueda de nuevos compuestos y fueron llevando la química medicinal hacia un terreno cada

vez más racional, en donde se fue invirtiendo la estrategia de la búsqueda. Es decir, se pasó de encontrar una acción farmacológica a compuestos conocidos, a buscar o diseñar compuestos nuevos a partir de una acción farmacológica deseada.

Estrategias modernas para la búsqueda de drogas

Dentro de las estrategias modernas para la búsqueda de nuevas drogas, existen distintas aproximaciones. Éstas se pueden clasificar evaluando el grado de azar que incorporan. Así, a ambos extremos de esta clasificación se sitúan, por un lado, los métodos basados en el *screening* de bibliotecas de compuestos, en que la estrategia de búsqueda está basada exclusivamente en el azar, y por el otro, el diseño racional de drogas, en donde existe un conocimiento del blanco al nivel molecular y cada elemento en el diseño de la droga está fundamentado. Por supuesto, hay una gama de estrategias intermedias basadas en mayor o menor medida en el azar.

En el primer caso se intenta aumentar las probabilidades de éxito mediante el uso de un gran número de ensayos de evaluación del compuesto químico. Esto puede hacerse de dos maneras que implican algunas diferencias conceptuales. La primera es definir un experimento modelo para ensayar cierta actividad biológica buscada, sobre una extensa biblioteca de compuestos. El problema se centra, en este caso, en cómo obtener una biblioteca de compuestos originales lo suficientemente grande como para tener una probabilidad de acierto no despreciable. La solución aparentemente definitiva a este problema llegó en los años 90 junto con la síntesis combinatoria. Aunque, si bien esta herramienta hizo posible la generación de bibliotecas inmensas de compuestos originales, posee una falencia intrínseca, que es la limitada diversidad estructural, sujeta al tipo de reacciones aplicables. Es decir que, aunque es posible generar una gran cantidad de moléculas distintas al aplicar una serie de reacciones sobre distintos sustratos, al mismo tiempo, esa secuencia limita el tipo de estructura obtenido, y por ende, las probabilidades de encontrar nuevas estructuras activas en el modelo biológico utilizado.

La segunda opción, que intenta subsanar el problema de la diversidad estructural, es el *screening* de compuestos naturales aprovechando la diversidad que ofrece la naturaleza, y aún más, la pureza estereoquímica de los productos naturales. Obviamente, el aislamiento, purificación y caracterización de productos naturales implica un largo trabajo por cada estructura nueva. Esto hace que este tipo de bibliotecas sean mucho más reducidas en número que las generadas por síntesis combinatoria. Por otro lado, las posibilidades de acierto pueden aumentar si lo que se busca no es un efecto específico sino una nueva droga con alguna actividad biológica importante. Ésta es una motivación común en la industria farmacéutica a fin de introducir nuevas drogas al mercado, aunque también lo es en el ámbito académico. Muchos grupos de investigación dedican sus esfuerzos a aislar, purificar e identificar nuevas y complejas estructuras químicas, ya sea porque pertenecen a una familia química que posee cierto tipo de actividad biológica general o porque se espera encontrar nuevos compuestos especulando con que posean alguna actividad relacionada con la fuente natural o con su entorno. En definitiva, en esta aproximación se diseña con mayor cuidado una serie de experimentos para evaluar distintos compuestos por lo que el incremento en las probabilidades de acierto viene dado por un mayor número de ensayos para la evaluación de las potenciales actividades biológicas.

En el caso de contar con muy buenos recursos financieros, es posible encarar la máxima expresión de este tipo de aproximaciones, lo que se conoce como "*High-throughput screening*". Con la ayuda de la robótica se puede realizar el *screening* de una gran biblioteca de compuestos sobre unos 40 o 50 ensayos. El problema de alimentar un sistema de ensayos con gran cantidad de compuestos se puede resolver utilizando extractos de productos naturales, los cuales se purifican y caracterizan sólo en el caso de encontrar actividad, sin embargo, la química combinatoria sigue siendo la mayor fuente de compuestos en este caso, con la consecuente limitación de la diversidad estructural, antes mencionada.

En general, este tipo de estrategias tiene su origen en la necesidad de hallar una droga efectiva en el corto plazo. Urgencias de esta clase pueden darse por razones tan disímiles como la necesidad de paliar una nueva enfermedad de rápida expansión o introducir una nueva droga en el mercado para lograr mayor competitividad.

En el camino entre lo puramente azaroso y lo puramente racional se encuentran estrategias "intermedias", con un conjunto de compuestos son mucho más limitado, ya que se toma como referencia una droga modelo de actividad ya conocida y se estudia el efecto que tienen distintas modificaciones sobre su estructura. Esta aproximación no es de las más modernas, conceptualmente hablando, pues ya hemos visto que su implementación comenzó en la primera mitad del siglo pasado. Sin embargo, ha ido incorporando elementos de la química y la biología modernas y ha mantenido su vigencia, siendo, de hecho, la práctica más común ya que posee la mejor relación entre probabilidad de éxito y costo. La parte racional radica en el conocimiento de que el efecto terapéutico de una droga está estrechamente relacionado con su estructura química. De esta manera, pequeñas variaciones en la estructura suponen cambios en la potencia de la droga, lo que garantizan, en general, una actividad distinta de cero, y, en caso de éxito, una actividad mayor. La incorporación del azar se da por las variaciones que se realizan sobre la estructura. Aquí es donde se puede modular el factor azar haciendo más o menos racionalmente dichos cambios. Generalmente, se reconoce una parte de la estructura que se cree necesaria para que la droga sea activa, conocida como farmacóforo. Fuera de este farmacóforo, las modificaciones pueden tener un carácter racional, como variar la lipofilicidad con fines farmacocinéticos, o eliminar grupos lábiles o reactivos.

Evidentemente, la posibilidad de realizar modificaciones elegidas racionalmente está íntimamente relacionada con el conocimiento del mecanismo de acción de la droga. Sin embargo, en la década del 60 surgió una nueva aproximación en la que se intentaba prever qué cambio era necesario realizar sobre una estructura líder sin conocer necesariamente su acción al nivel molecular. El problema se abordó desde un punto de vista bastante original que consiste en cuantificar las propiedades fisicoquímicas de las moléculas en cuestión mediante diversos parámetros, para poder encontrar correlaciones numéricas entre la estructura y la actividad biológica. Esta técnica se conoce como QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship), y los parámetros que se intenta relacionar están basados tanto en propiedades vinculadas a que las interacciones entre la droga y su receptor, como en propiedades relacionadas con la absorción, la distribución, el metabolismo y la excreción (ADME) de la droga. De hecho, los trabajos

iniciales se centraron en correlacionar el coeficiente de partición octanol/agua ($\log P$) con la actividad medida, ya que se especulaba con que esta propiedad, estrechamente relacionada con los fenómenos de transporte, incidía en una gran medida en dicha actividad. En la actualidad existe una gran cantidad de parámetros relacionados a distintas propiedades fisicoquímicas, sin embargo, el objetivo sigue siendo el de evaluar correctamente la incidencia de cada uno de ellos con relación a la actividad biológica esperada, a fin de desarrollar un modelo matemático que pueda predecir cuantitativamente el cambio en la actividad con relación a los cambios en la estructura.

Finalmente, no podemos obviar la contribución de la informática a la búsqueda de drogas nuevas. Es innegable que la capacidad de cálculo a la que se accede por medio de una computadora facilita notablemente o, mejor dicho, hace posible el procesamiento de enormes cantidades de datos como los obtenidos en experimentos tipo "*high throughput*". También es cierto que facilita el desarrollo de modelos de predicción con múltiples parámetros en QSAR, pero la contribución más interesante es, probablemente, la que hace a través del modelado molecular.

El concepto de predicción de propiedades fisicoquímicas de las moléculas nació junto con la mecánica cuántica, sin embargo, la aplicación de las aproximaciones a las ecuaciones correspondientes a sistemas más complejos que la molécula de hidrógeno se hace impracticable sin la ayuda del cálculo computacional. Tal es el requerimiento matemático para calcular los estados de energía de las moléculas más simples. Recién en la década de 1970 comenzó a vislumbrarse la posibilidad de procesar en tiempos razonables los volúmenes de cálculo correspondientes a la predicción de los niveles de energía de moléculas simples. Es sabido que el desarrollo de la informática se produjo de manera exponencial desde su inicio, y hoy en día brinda herramientas de predicción valiosísimas para el químico medicinal en cuanto a la posibilidad de predecir la forma en el espacio tridimensional y otras propiedades importantes como el potencial electrostático o la capacidad de formar uniones no covalentes con un receptor. Obviamente, toda esta información carece de sentido sin el conocimiento del receptor a nivel molecular, ya sea una enzima, una proteína, o una determinada secuencia de ADN o ARN. La

biología molecular provee las herramientas necesarias para el estudio del receptor en cuestión. Por ejemplo, si el blanco molecular seleccionado es una enzima que se desea inhibir, la técnica de clonación y expresión en una bacteria o levadura facilita los medios para su obtención en grandes cantidades. También provee herramientas para el estudio estructural y funcional del receptor. Volviendo al ejemplo de la enzima, es posible, mediante manipulación genética, producir la inactivación por mutación dirigida (cambiar un aminoácido en particular), biosintetizar parcialmente la enzima para estudiar la actividad de ciertas subunidades independientemente, etc.

Diseño racional

Los avances mencionados más arriba fueron delineando la estrategia para la búsqueda racional de nuevas drogas. Esta estrategia se puede resumir en los siguientes puntos:

1. Identificación del blanco molecular (enzima, proteína, receptor, etc.)

2. Validación del blanco molecular.

La validación consta de la comprobación experimental de que el blanco molecular elegido es un objetivo válido para el tratamiento del mal en cuestión. Esta demostración se lleva a cabo, en general, con el apoyo de técnicas de biología molecular. Como ensayo característico podemos mencionar el *knock-down* genético, tomando como ejemplo una infección parasitaria. Si se sospecha que existe una enzima imprescindible para la supervivencia del parásito, se pueden inactivar los genes que codifican para esta enzima y, evaluar la viabilidad de este organismo con déficit de la misma. Como complemento se pueden realizar experimentos de recuperación, es decir, agregar externamente el metabolito sintetizado por la enzima en cuestión para ver si se compensa la falta del mismo por el déficit de la enzima.

3. Búsqueda de una molécula líder.

Ésta puede llevarse a cabo mediante un diseño basado en la estructura tridimensional del receptor, si es que existe información al respecto. En caso contrario, el método más común es basarse en la estructura del sustrato natural y hacer un estudio SAR para identificar el farmacóforo.

4. Optimización del compuesto líder.

Una vez identificado el farmacóforo se ajusta la estructura para optimizar las propiedades ADME, a la vez que se estudia la toxicidad y mutagenicidad de los compuestos sintetizados.

5. Estudios preclínicos y clínicos.

6. Aprobación de la droga por la entidad regulatoria correspondiente (p. ej. FDA en EE.UU.)

Siguiendo aproximadamente los pasos mencionados antes es que hacia la década del 90 comenzaron a aparecer las primeras drogas producto del diseño racional. Se puede contar como primer ejemplo al antihipertensivo Captopril (Squibb). El diseño de esta droga estuvo basado en la estructura tridimensional de la Carbopeptidasa A. Luego de hallar la droga líder succinilprolina, las mejoras hechas en su estructura, basadas en el conocimiento de la estructura tridimensional del sitio activo de la enzima, llevaron al inhibidor Captopril, 30.000 veces más potente. Los inhibidores de proteasa de HIV-1 saquinavir, indinavir, ritonavir y nelfinavir hicieron su aparición en el mercado a mediados de la década del 90. Todos ellos fueron diseñados exclusivamente sobre la base de estructuras tridimensionales. Existen muchos otros ejemplos de inhibidores diseñados sobre la base de la estructura tridimensional de las proteínas. Se han encontrado, de esta manera, inhibidores de aldosa reductasa, cisteínproteasa, HIV proteasa, proteína quinasa, transcriptasa reversa y purina nucleósido fosforilasa, entre otras. En otros casos, a falta de datos estructurales precisos, se ha utilizado el diseño tridimensional

basado en el ligando. Ejemplo de ello es el desarrollo de Devazepide (Merck & Co.), un antagonista de la hormona peptídica Colecitokinina (CCK). Los químicos de Merck reconocieron en el antagonista de CCK asperlicina (aislado del hongo *Aspergillus alliaceus*, $IC_{50} = 1,4$ mM) estructuras parciales de benzodiazepinas y triptófano. Sintetizando análogos de esta droga que contuvieran dichas estructuras llegaron al Devazepide ($IC_{50} = 80$ pM), 10.000 veces más potente.

Conclusiones

Ciertamente, todas las etapas concernientes al diseño racional de drogas involucran múltiples disciplinas. Idealmente, un grupo de investigación debería estar integrado por profesionales que dominen las diversas áreas del conocimiento, como la química orgánica, la fisicoquímica, la espectroscopia, la biología molecular, la química biológica, la virología, la parasitología, la medicina, entre otras. Es decir, para encarar el proceso completo de la búsqueda racional se necesitaría, en principio, un grupo de investigación interdisciplinario que pudiera abarcar todo el espectro de conocimiento necesario.

Sin ninguna duda, resulta apasionante pensar en la posibilidad de identificar un blanco molecular asociado a alguna enfermedad, estudiarlo en detalle y a partir de esa información diseñar y sintetizar una droga. Sin embargo, según lo dicho anteriormente, resulta difícil llevar a cabo todo este proceso en un único laboratorio. Existen, claro está, casos en que estas limitaciones, mayormente económicas, no lo son tanto. Por ejemplo, en la industria farmacéutica, las grandes empresas multinacionales cuentan con los recursos suficientes como para afrontar los gastos de sueldos de profesionales altamente capacitados y los más diversos instrumentos que van desde espectrómetros de resonancia magnética nuclear y difractómetros de rayos X, pasando por potentes computadoras, hasta costosos *kits* de ensayos biológicos y equipos automatizados. Dentro del ámbito académico, existen grupos multidisciplinarios que pueden contar con subsidios del orden del millón de dólares y abarcar desde la síntesis de nuevos

compuestos hasta la clonación, expresión y purificación de enzimas, pasando por el diseño asistido por computadora y diversas espectroscopías. Obviamente, las últimas etapas, es decir, los estudios preclínicos y clínicos, se reservan para drogas con muy serias posibilidades de ser comercializadas, por lo que a partir de estas etapas, casi invariablemente, aparece la inversión de la industria farmacéutica.

En nuestro país, los grupos de investigación son muy homogéneos en cuanto a disciplinas, por lo que pensar en encarar un proyecto de química medicinal parece bastante desacertado. Aún así, la colaboración entre grupos suele ser la solución a este problema. Nuestro sistema científico posee los conocimientos y el equipamiento necesarios para llevar a cabo proyectos de diseño racional, principalmente basados en la colaboración entre grupos, siempre y cuando esa colaboración responda a un objetivo común y no se dé como prestación de servicios entre grupos. En el último caso, el interés puede decaer y la pérdida de fluidez en el intercambio de resultados puede llevar al fracaso del proyecto.

La formación de grupos multidisciplinarios puede resultar muy provechosa a la hora de encarar proyectos de química medicinal, redundando en una mayor fluidez en la investigación. Por otro lado, el diseño racional de drogas se presenta como una de las formas más avanzadas y lógicas en la búsqueda de nuevas drogas, y es, al mismo tiempo, la estrategia con mayores perspectivas a futuro. Si bien hallar la droga ideal por diseño es una utopía, el hecho de que se apunte desde el inicio del diseño a buscar drogas que actúen en blancos moleculares específicos aumenta las posibilidades de encontrar drogas selectivas y, por lo tanto, seguras.

Bibliografía

www.iupac.org

Sternbach LH *Agents Actions*, 1972, 2, 193-6.

Kubinyi, H. Diseño racional de drogas. FCEyN, UBA. 19-24 de noviembre de 2001.

Kubinyi, H. J Recept Signal Transduct Res. 1999, 19, 15-39.

Wermuth, C.G., Ed. The practice of medicinal chemistry. Academic Press, London, 2003.

Fairlamb, A. H. Future Prospects for the Chemotherapy of Chagas. Facultad de Medicina, UBA.
19-20 abril 1999.

Tesis doctoral "Diseño y síntesis de inhibidores del camino biosintético de tripanotiona" E. L. Ravaschino, 26 de marzo de 2007, F.C.E.yN., Universidad de Buenos Aires.



ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **QuímicaViva**

Número 3, año 6, diciembre 2007

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar