



Screening Virtual: Una Herramienta Eficaz para el Desarrollo de Nuevos Fármacos en Latinoamérica

Alan TALEVI & Luis E. BRUNO-BLANCH*

*Química Medicinal, Departamento de Ciencias Biológicas,
Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata (UNLP)
Calle 47 y 115 (B1900AVV) – La Plata, Buenos Aires, Argentina.*

RESUMEN. El universo de estructuras químicas teóricas sintéticamente accesibles se calcula actualmente en 10^{100} compuestos. La Química Medicinal y la Industria Farmacéutica internacional en particular, ante la necesidad de aportar nuevos fármacos, han desarrollado herramientas para explorar ese universo virtualmente infinito de compuestos químicos conocidos. Entre esas herramientas encontramos el Screening Virtual (SV), definido como un conjunto de técnicas computacionales orientadas a seleccionar, de entre grandes bases de datos de compuestos químicos, aquellos que presenten mayor probabilidad de poseer una actividad biológica específica al tiempo que reúnen las características estructurales necesarias para exhibir un perfil farmacocinético adecuado. En esta revisión se describirán las distintas técnicas conocidas de SV, con sus ventajas y desventajas asociadas, dando algunos ejemplos de aplicaciones exitosas recientes y discutiendo las posibilidades de la aplicación de esta metodología en América Latina.

SUMMARY. "Virtual Screening: An Efficient Tool for the Development of New Drugs in Latin America". At present day, the universe of chemical structures synthetically accessible is estimated in 10^{100} compounds. Medicinal Chemistry and international pharmaceutical industry have developed tools to explore, in an efficient manner, that virtually infinite universe of known chemical entities. Among these tools we can find, defined as a set of computational techniques aimed to select, from large databases of chemical compounds, those which present the highest probability of having a specific biological activity and at the same time gather the minimal structural features to exhibit an adequate pharmacokinetic profile. In this review we will describe the different methodologies known as Virtual Screening (VS), with their associated advantages and disadvantages, giving some examples of recent successful applications and discussing the possibilities of the application of this methodology in Latin America.

INTRODUCCIÓN

El avance de la Química Orgánica y las tecnologías aplicadas a la Síntesis Química en las últimas cuatro décadas ha conducido a un aumento exponencial del número de compuestos químicos teóricamente factibles mediante síntesis, actualmente estimado en 10^{100} compuestos¹. Un claro indicador de este desarrollo es el crecimiento del número de compuestos registrados en el Chemical Abstract Service: en el año 1965 la cantidad de compuestos registrados ascendía a 212.000. En 1996 esa cifra había alcanzado los 16 millones de compuestos, con un millón de nuevas estructuras registradas por año². La ca-

pacidad de síntesis se ha acentuado desde entonces gracias al desarrollo de la Combinatoria Química, que implica llevar a cabo, simultáneamente, un gran número de reacciones sintéticas definidas a partir de reactivos químicos diversos en un único reactor (síntesis compleja) o en varios reactores (síntesis en paralelo), típicamente en fase sólida y más recientemente también en fase líquida³⁻⁵.

Este virtualmente infinito universo de compuestos químicos presenta posibilidades atractivas desde el punto de vista farmacéutico, ya que en semejante diversidad estructural se advierte el potencial de encontrar fármacos que in-

PALABRAS CLAVE: Docking, Filtrados ADME, Screening Virtual, Topología Molecular.

KEY WORDS: ADME filters, Docking, Molecular Topology, Virtual Screening.

* Autor a quien debe dirigirse la correspondencia. *E-mail:* lbb@biol.unlp.edu.ar

teractúen selectivamente con cualquier blanco molecular de interés. Sin embargo, considerando que el tiempo y los recursos materiales suelen ser limitados, es materialmente imposible evaluar farmacológicamente, de manera exhaustiva, ese inmenso conjunto de compuestos. Esta imposibilidad implica un desafío para la Química Medicinal: desarrollar nuevas tecnologías para explorar el universo químico conocido de manera racional y eficiente.

Como respuesta a esta necesidad en las últimas dos décadas han surgido tecnologías novedosas para la búsqueda de nuevos agentes terapéuticos que han sido incorporadas como práctica común a nivel de la industria farmacéutica internacional. Por un lado podemos mencionar el Screening de Alta Performance o *High Throughput Screening (HTS)*, que conjuga robótica y microensayos para evaluar biológicamente, mediante ensayos *in vitro* frente a receptores o enzimas, pequeñas cantidades de compuestos contra un gran número de blancos moleculares⁶. Por otro lado encontramos el *Screening Virtual (SV)*, un conjunto de técnicas computacionales que permiten, a partir de representaciones de la estructura molecular de los compuestos químicos almacenados en grandes bases de datos, identificar compuestos potencialmente interesantes desde el punto de vista farmacológico.

Entre las ventajas del SV pueden mencionarse: a) Rapidez: el estado de la técnica permite explorar bases de datos de varios millones de estructuras químicas en períodos de tiempo del orden de semanas b) Costo: el proceso de SV es un proceso relativamente poco costoso. Una vez que un laboratorio ha desarrollado o adquirido una base de datos y el software necesario para aplicar una metodología de SV el costo del SV se reduce simplemente al tiempo que el proceso de SV demanda al personal especializado. Con-

siderando que existen diversas bases de datos de estructuras químicas de dominio público, como es el caso de Pubchem (que actualmente incluye más de 40 millones de estructuras químicas) o ChemIDplus^{7,8}, la inversión mínima se reduce al equipo computacional necesario y al software específico; c) Carácter teórico: A diferencia del HTS, que requiere disponer de (pequeñas) cantidades de los compuestos evaluados, el SV, por su carácter teórico, no requiere de una muestra de los compuestos de la base de datos y puede realizarse incluso sobre estructuras hipotéticas. La adquisición o síntesis se realiza con posterioridad a la selección computacional del compuesto de la base de datos, y solamente se ensayan aquellos compuestos promisorios que son señalados como candidatos a presentar la actividad farmacológica buscada; d) Posibilidad de encontrar nuevas indicaciones terapéuticas para fármacos ya conocidos y aplicados en clínica, lo cual permite responder a necesidades terapéuticas de la población en tiempos relativamente breves, ya que es posible prescindir, al menos parcialmente, de los ensayos preclínicos de toxicidad aguda y crónica y de los ensayos clínicos orientados a establecer la seguridad del fármaco; e) El SV responde a la filosofía de las pautas de bioética vigentes a nivel internacional, que proponen utilizar modelos computacionales y ensayos *in vitro* previos a la realización de ensayos preclínicos y clínicos *in vivo*⁹.

El aumento en el uso de estas metodologías se aprecia en la Figura 1, en la que puede observarse el número de artículos de revistas científicas que llevan en su título o entre sus palabras claves el término "Virtual Screening", según dos reconocidos buscadores de literatura científica: Scirus (acceso público, <http://www.scirus.com>) y Scopus (acceso con suscripción, <http://www.scopus.com>)

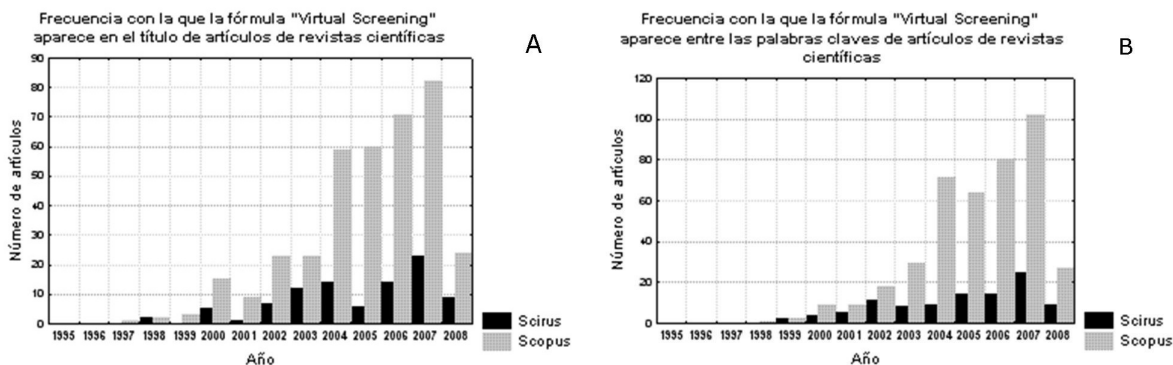


Figura 1. A: Número de artículos que contienen el término "Virtual Screening" en el título y **B:** Número de artículos que contienen el término "Virtual Screening" entre las palabras clave publicados entre los años 1995 y 2008 en revistas científicas.

www.scopus.com/scopus/home.url). Se restringió la búsqueda a revistas científicas de aparición periódica (journals) y se empleó como entrada de búsqueda el término “virtual screening”, entrecomillado.

CLASIFICACIÓN

Las técnicas de SV pueden clasificarse en dos grandes grupos, según se enfoquen en el blanco molecular o en el ligando.

La primera aproximación, el SV basado en el receptor, podrá ser utilizada cuando se disponga de la estructura 3D del blanco molecular por cristalografía de rayos X, RMN o modelado por homología. El SV basado en el receptor implica el docking de cada potencial ligando de la base de datos al sitio de unión del blanco molecular, simulando eventos de reconocimiento molecular (Fig. 2).

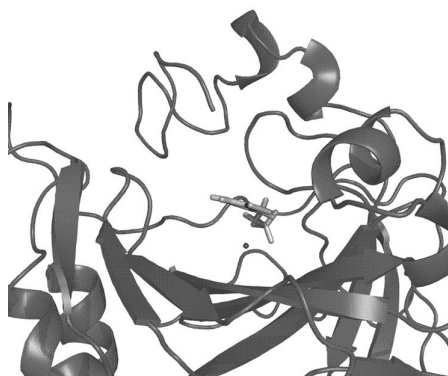


Figura 2. Screenshots del docking de la bencil sulfamida con la isoenzima II de la anhidrasa carbónica.

La mayoría de las estructuras disponibles corresponden a proteínas solubles en agua (especialmente enzimas), debido a las dificultades intrínsecas asociadas a la obtención de estructuras cristalinas/RMN de proteínas de membrana, tales como receptores y canales iónicos ^{10,11}.

Los bajos niveles de proteínas de membrana presentes en membranas biológicas hacen que en general las proteínas de membrana no puedan obtenerse en cantidades suficientes de su ambiente nativo, debiendo apelar a técnicas de sobre-expresión de proteínas. Un problema inherente al clonado de proteínas de membrana en sistemas tales como *Escherichia coli* es la agregación de la proteína en el citoplasma de la célula anfitrión; adicionalmente, la proteína suele requerir modificaciones post-traduccionales que no se producen en la célula anfitriona bacteriana. Por otra parte las proteínas de membrana se encuentran embebidas en una membrana

lipídica que constituye una estructura compleja, heterogénea y dinámica, incluso en los organismos más sencillos.

Las dificultades para obtener la estructura 3D de proteínas de membrana restringen la aplicación del SV enfocado en el blanco molecular cuando éste es una proteína con dominios transmembrana, como ser el caso de los canales iónicos operados por voltaje, de interés en el desarrollo de antiarrítmicos, anestésicos y anti-convulsivantes ¹². Si tenemos en cuenta que el 30% del genoma humano codifica proteínas integrales de membrana ¹⁰, se hace evidente la necesidad de utilizar técnicas que superen las limitaciones del SV orientado al blanco molecular. La Figura 3, tomada del trabajo de Terstappen & Reggiani ¹³, presenta la clasificación y distribución estimativa de los blancos moleculares de fármacos. Puede observarse la relevancia de las proteínas de membrana como blancos de nuevos fármacos.

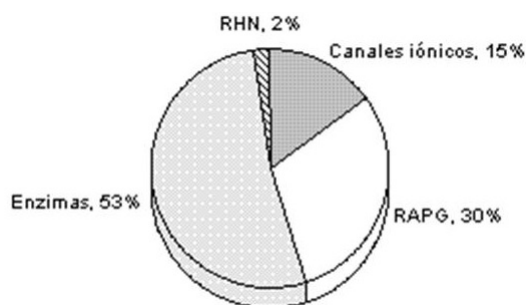


Figura 3. Distribución de los blancos moleculares de fármacos predichos por Terstappen & Reggiani ¹³ en base a análisis bioinformático del genoma humano. RHN se refiere a receptores hormonales nucleares; RAPG indica receptores acoplados a proteína G.

Dentro de las técnicas de SV orientadas al ligando puede realizarse una sub-clasificación: metodologías basadas en superposición de farmacóforos, en descriptores o en similitud

Metodologías basadas en superposición con farmacóforos

Si se dispone de una geometría de unión al receptor aproximada (por ejemplo, cuando existe un análogo rígido con la libre rotación de los enlaces restringida, y por lo tanto menor libertad conformacional) es posible extraer las características químicas y geométricas relevantes de los ligandos conocidos y derivar un farmacóforo que puede utilizarse en la búsqueda de nuevos ligandos en bases de datos. Las conformaciones consideradas en estas metodologías se limitan

habitualmente a conformaciones de baja energía. La superposición puede considerar superposición de átomos o de "campos" (campo electrostático, campos que tengan en cuenta la forma de las moléculas, etc.)¹⁴. Las técnicas de superposición 3D usualmente suponen evaluar la diferencia de energía entre dos conformaciones (la más probable, obtenida por análisis conformacional sistemático, y la conformación activa) o, en su defecto, evaluar una serie de conformaciones probables, de baja energía, para cada estructura de la base de datos. Esta opción aumenta su costo computacional y limita la aplicación en grandes bases de datos. Una excelente revisión de los principios fundamentales y aplicaciones de la superposición puede encontrarse en el trabajo de Lemmen & Lengauer¹⁵. Recientemente, Tervo *et al.*¹⁶ desarrollaron BRUTUS, un algoritmo de superposición basado en grillas, utilizando campos electrostáticos y estéricos. En un experimento para evaluar la utilidad de BRUTUS en SV, los autores adicionaron 341 inhibidores conocidos de la proteasa del virus HIV-1 y 153 inhibidores conocidos de la ciclooxigenasa-2 a una base de datos de 55.000 estructuras químicas. Utilizando como moléculas de referencia para la superposición dos inhibidores conocidos de la proteasa de HIV-1 (un derivado cíclico de la urea y un peptidomimético) y un inhibidor conocido de la COX-2 los autores lograron extraer un % de inhibidores conocidos de entre el 50 y 70%. En otro experimento, Todorov *et al.*¹⁷ obtuvieron, a partir de superposición de ligandos conocidos, un modelo indirecto del sitio de unión de diversos blancos moleculares. Otro ejemplo de aplicación es el trabajo de Doddadery *et al.*¹⁸. En el mismo, un farmacóforo para bloqueo de canales de calcio de tipo T, identificado previamente (Fig. 4) se aplicó en el SV de una base de datos de 8.222 bloqueantes de canales iónicos (ChemDiv) y una segunda base comercial de 55.273 estructuras (Maybridge). Se eligieron para ensayos biológicos, 25 compuestos con motivos estructurales novedosos con respecto a los de los bloqueantes de canales de Ca de tipo T conocidos. 22 de estos compuestos mostraron cierta capacidad de bloqueo de la corriente de Ca. Se determinó la IC₅₀ (0.10 μmoles) de uno de ellos, VH04, resultando ocho veces más activo que el mibefradil. La Figura 5 presenta un ejemplo de superposición de ligandos al farmacóforo de anticonvulsivantes bloqueantes de canales de sodio identificado en nuestro laboratorio.

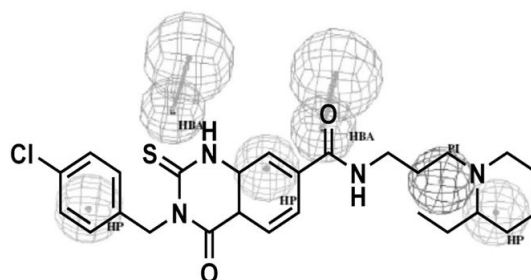


Figura 4. Farmacóforo aplicado en SV por Doddadery *et al.*¹⁸. PI indica presencia de un grupo ionizable básico, HP denota regiones hidrofóbicas y HBA señala grupos aceptores de puentes de H.

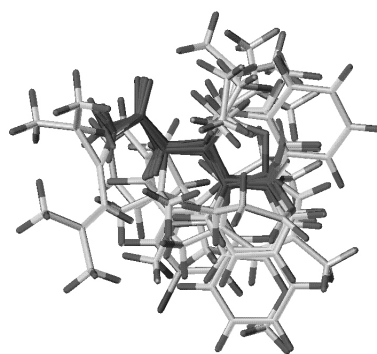


Figura 5. Superposición de potenciales fármacos anti-convulsivantes con el fármacóforo de fármacos anti-convulsivos activos (en color más intenso) en ensayo MES.

Metodologías basadas en descriptores

Un descriptor es una variable que refleja algún aspecto de la estructura molecular. Un ejemplo de descriptor clásico es el coeficiente de reparto octanol-agua (log P) que se utiliza para describir la hidrofobicidad de una molécula. Mediante técnicas de modelado es posible establecer la relación entre uno o varios descriptores y una actividad biológica de interés, conocidas como Relaciones Estructura Actividad Cuantitativa (Quantitative Structure-Activity Relationships- QSAR). Los modelos QSAR pueden aplicarse en SV, prediciendo la actividad de las estructuras de una base de datos. Debe considerarse que las grandes bases de datos de estructuras químicas están formadas, habitualmente, por cientos de miles o millones de estructuras químicas heterogéneas; por lo tanto, se desea que el conjunto de estructuras a partir del cual se obtendrá el modelo QSAR (el conjunto de entrenamiento) presente buena diversidad estructural. Esta idea se vincula al concepto de dominio de aplicabilidad: las predicciones de un modelo QSAR serán exactas dentro del sector

del espacio químico descrito por el conjunto de entrenamiento. Por otro lado, cuanto mayor la diversidad estructural del conjunto de entrenamiento, mayor la probabilidad de detectar nuevos motivos estructurales activos, que de alguna manera integren diferentes características de las estructuras activas de los compuestos del conjunto de entrenamiento. Un ejemplo clásico para comprender fácilmente la idea del dominio de aplicabilidad del modelo QSAR es el de la conocida relación parabólica, para series congenericas, entre la biodisponibilidad oral de un fármaco y su hidrofobicidad ¹⁹. En la Figura 6 se observa, a modo de ejemplo, la gráfica del % de droga recuperada en orina tras administración oral (UR %) versus el log P de una serie de pró-fármacos de la ceftizoxima (datos extraídos del trabajo de Kasai *et al.* ²⁰). Si se obtuviera un modelo QSAR a partir de los compuestos correspondientes a la rama de la parábola a la izquierda del vértice (valores de log P menores a 1.22, el máximo de la parábola) el modelo obtenido sería lineal con UR % creciendo indefinidamente conforme aumenta log P, y la capacidad de predicción de dicho modelo para compuestos con log P > 1.22 sería muy pobre.

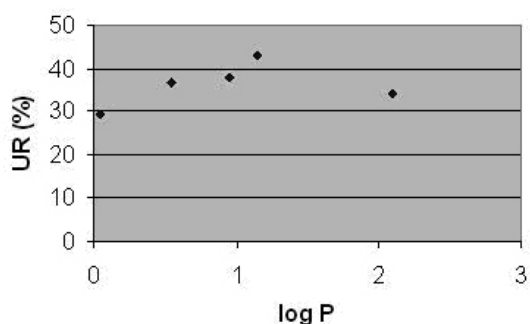


Figura 6. La relación parabólica entre el log P y la biodisponibilidad oral ilustra la inexactitud en la predicción de un modelo QSAR cuando se extrapola fuera del dominio de aplicabilidad definido por el conjunto de entrenamiento.

Los descriptores moleculares pueden clasificarse en descriptores dependientes o independientes de la conformación. El uso del primer tipo de descriptores, los descriptores 3D, requerirá de un análisis conformacional previo de la estructura molecular de los compuestos del conjunto de entrenamiento para calcular el descriptor a partir de una conformación probable. Idéntico análisis deberá hacerse para las estructuras de la base de datos que se utilizará en el

SV. La necesidad de optimizar la geometría molecular eleva considerablemente el costo computacional del SV basado en descriptores 3D. Las metodologías 3D-QSAR más populares (por ejemplo, CoMFA) utilizan como descriptores el valor de ciertos campos de fuerza de la molécula sobre un átomo de prueba ubicado en puntos de una grilla regular dispuesta alrededor de la molécula. Para que las metodologías basadas en grilla provean resultados consistentes se requiere no sólo la definición de una conformación probable sino de un criterio de orientación de las moléculas estudiadas dentro de la grilla ²¹.

Una alternativa para resolver el problema de la orientación y del costo computacional asociado a la búsqueda conformacional son los descriptores que no dependen de la orientación ni la conformación, como los descriptores topológicos (2D) y los descriptores constitucionales (derivados simplemente de la fórmula química, como por ejemplo el peso molecular o el número de átomos de nitrógeno de una estructura). Una revisión reciente del grupo de topología molecular de la Universidad de Valencia describe los principios de la topología molecular, y aplicaciones exitosas en la búsqueda de fármacos diversos, entre ellos broncodilatadores, citostáticos, antihistamínicos, antivirales, hipoglucemiantes, antibióticos y antifúngicos ²². Nuestro grupo ha aplicado SV basado descriptores independientes de la conformación en la búsqueda de fármacos antiepilépticos y antichagásicos ²³⁻²⁷. A partir del SV de la base de datos de compuestos del Merck Index, utilizando descriptores independientes de la conformación calculados mediante el programa Dragon ²⁸, se descubrió la actividad anticonvulsiva del ácido abiético y del propil y metilparabeno (NIPAGIN, NIPASOL), estos últimos ampliamente utilizados en la industria cosmética, farmacéutica y alimenticia como conservantes antimicrobianos (Fig. 7).

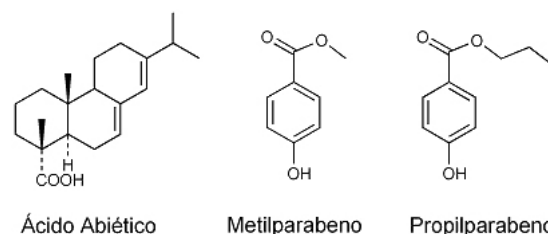


Figura 7. Estructuras de nuevos prototipos anticonvulsivantes identificadas por nuestro grupo de trabajo. Se destaca la novedad estructural con respecto a los fármacos anticonvulsivos ya conocidos.

Metodologías basadas en similitud

Cuando no se dispone de un número suficiente de compuestos activos conocidos que actúen por el mecanismo molecular de interés con los que conformar el conjunto de entrenamiento de un modelo QSAR puede recurrirse a metodologías de SV por similitud ²⁹. Para medir la similitud estructural de un compuesto de la base de datos con respecto al compuesto de referencia (un compuesto activo conocido) se recu-

rre a las llamadas secuencias binarias que codifican la presencia o ausencia de un fragmento o subestructura determinada (un par, triada, tétada o secuencia de átomos, por ejemplo). Para comparar las secuencias binarias de dos moléculas se recurre a un coeficiente de similitud, que cuantifica el grado de relación entre las estructuras comparadas. El coeficiente de similitud más utilizado es el de Tanimoto, en su forma binaria definido como:

$$S = \frac{c}{a + b - c}$$

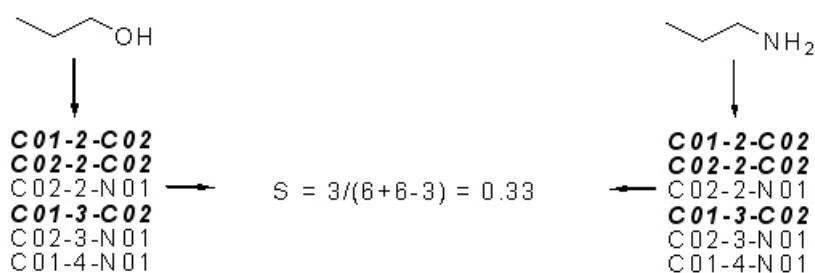
donde *c* es el número de subestructuras en común entre las dos estructuras, *a* es el número total de subestructuras de la estructura A (por ejemplo, la estructura de referencia) y *b* es el número total de subestructuras de la estructura B (por ejemplo, un compuesto de la base de datos). Las investigaciones más importantes referidas a SV basado en similitud se desarrollan

en las Universidades de Washington y Sheffield y en laboratorios Merck ³⁰⁻³³. Para propósitos ilustrativos, supongamos que se desea cuantificar la similitud entre el n-propanol y la n-propilamina, utilizando los pares de átomos de Carhart como subestructura. El par de átomos de Carhart es un tipo de subestructura que puede definirse como:

(descripción del átomo 1)-(distancia)-(descripción del átomo 2)

donde la descripción de los átomo incluye el símbolo atómico que describe la naturaleza del átomo, el número de electrones π sobre ese átomo y el número de átomos distintos de hidróge-

no unidos al mismo, y la distancia indica el número de átomos entre el átomo 1 y el átomo 2, por el camino más corto.



La Tabla 1 sintetiza las ventajas y desventajas de las distintas aproximaciones de SV.

UNA HERRAMIENTA POTENCIAL PARA EL DESARROLLO DE FÁRMACOS EN LATINO-AMÉRICA

Pese a contar con profesionales calificados y a la continua expansión del mercado farmacéutico local, el desarrollo farmacéutico en América Latina se concentra, fundamentalmente, en desarrollo galénico, siendo marginales los esfuerzos centrados en la investigación y desarrollo (I&D) de nuevos fármacos. El 97% de la inver-

sión en I&D se concentra en los países desarrollados, hecho que se refleja en el escaso número de nuevos fármacos para el tratamiento de enfermedades tropicales introducidos en el mercado farmacéutico mundial entre 1975 y 1999: tan sólo 20 sobre un total de 1393 ^{34,35}. Lamentablemente, la mayor participación de América Latina en las actividades de I&D de nuevas entidades terapéuticas consiste en la participación de pacientes de la región en ensayos clínicos de compañías internacionales ³⁶.

En este escenario, un cambio cultural en la política de inversión del sector farmacéutico de

Aproximación de SV	Ventajas	Desventajas
Enfocado en el receptor	Permite visualizar las interacciones ligando-receptor; fácil interpretación de los resultados.	Se requiere disponer de la estructura de rayos X o RMN del receptor, e idealmente del complejo ligando-receptor; dificultad para obtener esta estructura en el caso de proteínas de membrana.
Basado en superposición.	Considera la geometría molecular. Posibilidad de tener en cuenta diferencias de actividad entre isómeros ópticos. Pueden aplicarse aún cuando se conocen pocos ligandos del blanco molecular de interés, sobre todo cuando entre ellos existen análogos rígidos.	Alto costo computacional: debe partirse de una conformación probable de la molécula y calcular la diferencia de energía necesaria para que cada compuesto asuma la conformación activa. Debe definirse un criterio para superponer las estructuras o evaluar diferentes criterios posibles de superposición.
Basado en descriptores 3D.	Considera la geometría molecular. Posibilidad de tener en cuenta diferencias de actividad entre isómeros ópticos. En el caso de técnicas basadas en grilla, facilidad en la interpretación del modelo. Posibilidad de modelar parámetros farmacocinéticos.	Alto costo computacional. Necesidad de realizar una optimización de geometría del conjunto de entrenamiento; necesidad de que las estructuras de la base de datos estén optimizadas. En el caso de metodologías basadas en grillas, deben definirse criterios de orientación. Debe disponerse de un número mínimo de ligandos conocidos a fin de derivar el modelo QSAR.
Basado en descriptores 2D.	Bajo costo computacional; la eficiencia de las metodologías permite aplicarlas en tiempos razonables a bases de datos de millones de estructuras. No dependen de la conformación ni de la orientación. Posibilidad de modelar parámetros farmacocinéticos.	Dificultades para interpretar los modelos, derivadas del carácter abstracto de muchos descriptores 2D. Dificultad para discriminar isómeros ópticos. Debe disponerse de un número mínimo de ligandos conocidos a fin de derivar el modelo QSAR.
Basado en similitud.	Bajo costo computacional; la eficiencia de las metodologías permite aplicarlas en tiempos razonables a bases de datos de millones de estructuras. No dependen de la conformación ni de la orientación. Pueden utilizarse aún cuando se disponga de un número limitado de ligandos conocidos del blanco molecular estudiado.	No indica claramente qué características estructurales son favorables o desfavorables a la actividad, ni brinda información relativa a la interacción con el blanco molecular o a parámetros farmacocinéticos. Dificultad para discriminar isómeros ópticos en el caso de subestructuras 2D.

Tabla 1. Ventajas y desventajas de las distintas aproximaciones de SV.

América Latina sería crítico para el desarrollo humano y económico en nuestra región, atendiendo a las necesidades sanitarias de la población local y participando de un mercado mundial que asciende a 607.900 millones de dólares anuales ³⁵.

El SV constituye una herramienta poco conocida y explotada en nuestra región, que no obstante presenta ventajas considerables en el escenario latinoamericano. Entre ellas, su bajo costo

y la posibilidad de obtener patentes de segundos usos médicos (patentamiento del uso de un fármaco X ya aprobado para el tratamiento de la patología Y en el tratamiento de una segunda patología Z) con una inversión relativamente pequeña en ensayos preclínicos y clínicos. Esta posibilidad es atractiva si se tiene en cuenta que el proceso de desarrollo de un nuevo fármaco es largo (12-13 años), costoso (en promedio, más de 800 millones de euros en 2001) y riesgo-

so (de cada 10.000 nuevas estructuras sintetizadas sólo una o dos terminan en el mercado bajo la forma de un medicamento) ^{35,37-38}; la patente de un segundo uso reduce notablemente el tiempo, costos y riesgos asociados al desarrollo, por cuánto en el caso de un fármaco con antecedentes de uso clínico su seguridad conocida permite omitir la realización de estudios preclínicos de toxicidad aguda y crónica y estudios clínicos vinculados a la toxicidad del fármaco. Existen ejemplos exitosos desde el punto de vista terapéutico y comercial del uso de un fármaco ya conocido para una indicación novedosa, entre ellos: la aprobación de la talidomida (laboratorios Celgene) como tratamiento del eritema nodoso de la lepra por parte de la FDA, el uso del finasteride en el tratamiento de la calvicie masculina (laboratorios Merck) y la aplicación de la clorpromazina en la terapia combinada para el tratamiento del cáncer (laboratorios CombinatoRx).

Los esfuerzos de desarrollo de nuevos fármacos en Latinoamérica basados en técnicas de SV se concentran en los grupos de las Universidades de Las Villas ³⁹⁻⁴⁵, San Pablo ⁴⁶⁻⁴⁷, La Plata ^{23-27,48}, y del Instituto Politécnico Nacional de México ⁴⁹; no pocos de estos esfuerzos están orientados a la búsqueda de nuevos fármacos para enfermedades de la pobreza tales como la tuberculosis, mal de Chagas, la malaria y otras parasitosis tropicales ^{27, 40-42,45,49}.

PERSPECTIVAS

Se ha discutido largamente acerca de cuál es la metodología más apta, de entre las anteriormente descritas (docking, SV 3D y SV 2D), para llevar a cabo un estudio de SV, sin llegar a conclusiones definitivas. Usualmente la discusión se ha fundado en los conceptos de eficacia y eficiencia, es decir, cuán confiables son las predicciones de los métodos y cuál es el costo computacional de los mismos. Un excelente estudio sistemático llevado a cabo por Zhang y Muegge ⁵⁰, en el que realizan simulaciones de SV para diferentes blancos moleculares comparando los resultados del SV basado en el receptor, con los del SV basado en el ligando (2D y 3D), demuestra que no existe una aproximación definitivamente mejor que las restantes. La elección preferencial de una técnica de SV será entonces función del problema particular al que se enfrenta el químico medicinal y de la información disponible. Un paso superador en el debate mencionado ha sido la perspectiva integradora: el uso conjunto, secuencial, de dos o más de las

metodologías descritas, eligiendo racionalmente en qué etapa del proceso de SV utilizar una u otra y sacando provecho de las ventajas de cada una de ellas de manera “sinérgica”. Suele preferirse el uso de técnicas de similaridad o basadas en descriptores 2D al inicio del SV, para el análisis de grandes bases de datos, reservando para las etapas finales las técnicas más costosas en términos computacionales. Por ejemplo, Guba *et al.* ⁵¹ identificaron, a través de SV por similaridad topológica 2D combinada con superposición con farmacóforo aplicada a la base de datos de laboratorios La Roche, 632 antagonistas del receptor de neuropéptidos Y, de entre los cuales 31 mostraron IC₅₀ < 40 µm. En el trabajo de Kim *et al.* ⁵², a partir de una base de datos de más de 600.000 estructuras de ChemDiv Inc y utilizando como filtros sucesivos, en ese orden, filtros ADME, selección basada en farmacóforo, SV 2D y docking, descubrieron 3 compuestos con potencial aplicación en el tratamiento de la diabetes tipo 2.

Partiendo de la observación de que la mayor parte de los proyectos de desarrollo de nuevos fármacos fracasaban tradicionalmente en etapas avanzadas del desarrollo mayormente debido a problemas de índole farmacocinética o toxicológica (Fig. 8), una estrategia moderna consiste en el uso de filtros ADME/Tox in silico para descartar en las primeras etapas del desarrollo del fármaco aquellas estructuras con potenciales problemas de biodisponibilidad y toxicidad ⁵³. Estos filtros suelen consistir en modelos QSAR de la propiedad que se desea predecir (por ej. % de absorción intestinal) o en reglas empíricas como las reglas de Lipinski ⁵⁴⁻⁵⁵.



Figura 8. Motivos de fracaso de proyectos de desarrollo de nuevos fármacos entre 1964 y 1985 (tomada de Schuster *et al.*, Curr. Pharm. Des. 2005) ⁵⁶.

CONCLUSIONES

El SV es una herramienta moderna y efectiva para la búsqueda racional de nuevos fármacos. La aplicación de la misma presenta un enorme potencial para América Latina, región en la cual la industria farmacéutica se ha focalizado en el desarrollo galénico y donde existen patologías huérfanas de medicamentos debido al escaso interés económico de los laboratorios farmacéuticos internacionales. La posibilidad de identificar segundos usos patentables en fármacos ya conocidos permitiría responder, en menores tiempos y a menores costos, a necesidades terapéuticas de la región con una menor inversión de recursos en los ensayos preclínicos y clínicos, y la inserción de América Latina en un mercado que moviliza más de 600.000 millones de dólares anuales, con el consabido fortalecimiento de la economía regional. En relación al potencial de la metodología, la misma no ha sido completamente explotada a nivel regional, observándose que su aplicación se produce, mayoritariamente, a nivel de centros de investigación públicos y no en el sector privado.

Las aplicaciones más novedosas del SV integran las diversas aproximaciones conocidas y filtros ADME/Tox de una manera superadora, que permite aprovechar las ventajas de cada una de los enfoques conocidos (desde el receptor/desde el ligando; 2D/3D).

Agradecimientos. A. Talevi agradece al CONICET. L.E. Bruno-Blanch agradece a la UNLP (Incentivos) y a la ANPCyT (BID 11985).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Schneider, G. & S.S. So (2002) "A conceptual framework", en *"Adaptive systems in drug design"* (G. Schneider & S.S. So, eds.), Landes Bioscience, Georgetown, Texas, Estados Unidos, págs. 3-31.
- Freemanthe, M. (1998) *Chem. Eng. News*. **76**, 17: 45.
- Van Hijfte, L., G. Marciniak & N. Froloff (1999) *J. Cromatograph. B*. **725**: 3-15.
- Koppitz, M. & K. Eis (2006) *Drug Discov. Today*. **11**: 561-8.
- Martínez-Palou, R. (2006) *Mol. Divers.* **9**: 435-62.
- Pereira, D.A. & J.A. Williams. (2007) *Brit. J. Pharmacol.* **152**: 53-61.
- National Center of Biotechnology Information, National Library of Medicine, National Institute of Health (Estados Unidos). Pubchem. <<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>>.
- Division of Specialized Information Services, National Library of Medicine, National Institute of Health (Estados Unidos). ChemIDplus Advanced. <<http://chem.sis.nlm.nih.gov/chemidplus>>.
- Council for International Organizations of Medical Sciences (1985) *International guiding principles for biomedical research involving animals*. Geneva.
- Seddon, A.M., P. Curnow & P.J. Booth (2004) *Biochim. Biophys. Acta*. **1666**: 105-17.
- Caffrey, M. (2003) *J. Struct. Biol.* **142**: 108-32.
- Meldrum, B.S. & M.A. Rogawski (2007) *Neurotherap.* **4**: 18-61
- Terstappen, G.C. & A. Reggiani (2001) *Trend Pharmacol. Sci.* **22**: 23-6.
- Sheridan, R.P. & S.K. Kearsley (2002) *Drug Discov. Today*. **17**: 903-11.
- Lemmen, C. & T. Lengauer (2000) *J. Comput. Aid. Mol. Des.* **14**: 215-32.
- Tervo, A.J., T. Ronkko, T.H. Nyronen & A. Posso (2005) *J. Med. Chem.* **48**: 4076-86.
- Todorov, N.P., I.L. Alberts, I.J.P. de Esch & P.M. Dean (2007) *J. Chem. Inf. Model.* **47**: 1007-20.
- Doddareddy, M.R., H. Choo, Y.S. Cho, H. Rhim, H.Y. Koh, J. Lee, S. Jeong & A.N. Pae (2007) *Bioorg. Med. Chem.* **15**: 1091-115.
- Navia, M.A., P.R. Chaturvedi (1996) *Drug Discov. Today*. **1**: 179-89.
- Kasai, M., S. Hatano, M. Kitagawa, A. Yoshimi, K. Nishimura, N. Mori, A. Sakai & T. Sugihara (1999) *Chem. Pharm. Bull.* **47**: 1081-8.
- Lo Piparo, E., K. Koehler, A. Chana & E. Benfenati (2006) *J. Med. Chem.* **49**: 5702-9.
- García Doménech, R., J. Gálvez, J.V. de Julián Ortiz & L. Pogliani (2008) *Chem. Rev.* **108**: 1127-69.
- Bruno-Blanch, L., J. Gálvez & R. García-Domenech (2003) *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **13**: 2749-54.
- Talevi, A., M. Sella-Craverro, E.A. Castro & L.E. Bruno-Blanch (2007) *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **17**: 1684-90.
- Talevi, A., C.L. Bellera, E.A. Castro & L.E. Bruno-Blanch (2007) *J. Comput. Aid. Mol. Des.* **21**: 527-38.
- Bellera, C.L., A. Talevi & L.E. Bruno-Blanch (2007) *Lat. Am. J. Pharm.* **26**: 243-51.
- Prieto, J.J., A. Talevi & L.E. Bruno-Blanch (2006) *Mol. Divers.* **10**: 361-75.
- Talete SRL. (2003) *Dragon Academic v. 4.0*, software para el cálculo de descriptores moleculares. Milán, Italia.
- Willett, P. (2006) *Drug. Discov. Today*. **11**: 1046-53.
- Bajorath, J. (2002) *Nat. Rev. Drug. Discov.* **1**: 882-94.

31. Godden, J.W., F.L. Stahura & J. Bajorath (2005) *J. Chem. Inf. Model.* **45**: 1812-9.
32. Sheridan, R.P. (2002) *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **42**: 103-8.
33. Holliday, J.D., C-Y. Hu & P. Willett. (2002) *Comb Chem. Hightroughput Screen.* **5**: 155-66.
34. Trouiller, P., P. Olliaro, E. Torreele, J. Orbinski, R. Laing & N. Ford (2002) *Lancet* **359**: 2188-94.
35. European Federation of Pharmaceutical Industries and Associations (2007) *The Pharmaceutical Industry in Figures*.
36. Rodríguez, D.J. (2007) *J. Invest. Med.* **55**: 223-9.
37. Dimasi, J.A. (2001) *Clin. Pharmacol. Ther.* **69**: 297-307
38. Dimasi, J.A. (2003) *J. Health. Econ.* **22**: 151-85.
39. Casanola Martín, G.M., Y. Marrero-Ponce, M.T.H. Khan, A. Ather, S. Sultan, F. Torrens & R. Rotondo (2007) *Bioorg. Med. Chem.* **15**: 1483-503.
40. Montero-Torres, A., R.N. García-Sánchez, Y. Marrero-Ponce, Y. Machado-Tugores, J.J. Nogal Ruiz, A.R. Martínez-Fernández, V.J. Arán, C. Ochoa, A. Meneses-Marcel & F. Torrens (2006) *Eur. J. Med. Chem.* **41**: 483-93.
41. Meneses-Marcel, A., Y. Marrero-Ponce, Y. Machado-Tugores, A. Montero-Torres, D.M. Pereira, J.A. Escario, J.J. Nogal-Ruiz, V.J. Arán, A.R. Martínez-Fernández & R.N. García-Sánchez (2005) *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **15**: 3838-43.
42. Marrero-Ponce, Y., J.A. Castillo-Garit, E. Olazábal, H.S. Serrano, A. Morales, N. Castañedo, F. Ibarra-Velarde, A. Huesca-Guillen, A.M. Sánchez, F. Torrens & E.A. Castro (2005) *Bioorg. Med. Chem.* **13**: 1005-20. helmintos
43. Marrero-Ponce, Y., M. Ivarreta-Veitía, A. Montero-Torres, C. Romero-Zaldivar, C.A. Brandt, P.E. Avila, K. Kirchgatter & Y. Machado (2005) *J. Chem. Inf. Model.* **45**: 1082-100.
44. Marrero-Ponce, Y., R.M. Marrero, F. Torrens, Y. Martínez, M.G. Bernal, V.R. Zaldivar, E.A. Castro & R.G. Abalo (2006) *J. Mol. Model.* **15**: 255-71.
45. Montero-Torres, A., M.C. Vega, Y. Marrero-Ponce, M. Rolón, A. Gómez-Barrio, J.A. Escario, V.J. Arán, A.R. Martínez-Fernández & A. Meneses-Marcel (2005) *Bioorg. Med. Chem.* **15**: 6264-75.
46. Braun, G.H., D.M. Jorge, H.P. Ramos, R.M. Alves, V.B. da Silva, S. Giulatti, S.V. Sampaio, C.A. Taft & C.H. Silva (2008) *J. Biomol. Struct. Dyn.* **25**: 347-55.
47. Da Silva, C.H., I. Carvalho & C.A. Taft (2007) *J. Biomol. Struct. Dyn.* **24**: 515-24.
48. Talevi, A., J.J. Prieto, E.A. Castro & L.E. Bruno-Blanch (2007) *J. Enz. Inhib. Med. Chem.* **22**: 253-65.
49. Segura-Cabrera, A. & M.A. Rodríguez-Pérez (2008) *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **18**: 3152-7.
50. Zhang, Q & I. Muegge (2006) *J. Med. Chem.* **49**: 1536-48.
51. Guba, W., W. Neidhart & M. Nettekoven (2005) *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **15**: 1599-1603.
52. Kim, H-J., H. Choo, Y.S. Cho, K.T. No & A.N. Pae (2008) *Bioorg. Med. Chem.* **16**: 636-43.
53. Van de Waterbeemd, H. & E. Gifford (2003) *Nature Rev. Drug Discov.* **2**: 192-204
54. Lipinski, C.A (2004) *Drug Discov. Today: Technol.* **1**: 337-41.
55. Ter Laak, A.M., R.S. Tsai, G.M. Dooné-Op den Kelder, P.A. Carrupt & B. Testa (1994) *Eur. J. Pharm. Sci.* **2**: 373-84.
56. Schuster, D., C. Laggner & T. Langer (2005) *Current Pharm. Des.* **11**: 3545-59.