

LA QUÍMICA COMPUTACIONAL EN DISSENY DE FÀRMACS

DISCURS

llegit a l'acte d'ingrés de l'Acadèmic Corresponent
Il·lustre Dr. F. Xavier Luque Garriga
Celebrat el dia 24 de gener de 2011

Presentació a càrrec de l'Acadèmica Numeraria
Molt Il·lustre Dra. Assumpció Alsina Esteller

Barcelona
2011

*L'Acadèmia no es fa solidària de
les opinions que s'exposen en les
publicacions, de les quals és responsable
l'autor:*

Dipòsit legal: B-4.111-2011
T.G. VIGOR, S.A.

Excel·lentíssim Sr. President
Molt il·lustres senyores i senyors acadèmics
Senyores i senyors

El fet d'haver estat escollida pels meus companys per presentar el Dr. Javier Luque en l'acte del seu ingrés com a acadèmic corresponent d'aquesta Reial Acadèmia és per mi motiu d'especial satisfacció, ja que em permet posar de manifest el gran encert de l'Acadèmia al donar entrada a un especialista de molt alt nivell en el camp de la modelització biomolecular i de la relació entre l'estructura molecular i l'activitat farmacològica. Aquest és un camp de recerca típicament farmacèutic que troba en els avenços actuals de la Química teòrica i de la Biologia Molecular amples possibilitats en l'objectiu de dissenyar nous fàrmacs per lluitar amb eficàcia contra les malalties, que és un dels objectius més nobles de la nostra professió. Per això, vull expressar el meu agraïment a la Junta de l'Acadèmia per haver-me designat per fer aquesta presentació.

El Dr. Javier Luque es va llicenciar en Ciències Químiques a la Universitat Autònoma de Barcelona l'any 1985 i va obtenir l'any següent el Grau de Llicenciat amb la qualificació d' Excel·lent en la mateixa Universitat.

Com a estudiant de doctorat es va incorporar al Departament de Físicoquímica de la Facultat de Farmàcia durant el curs 1986-87 i es va integrar, com a professor ajudant, a les activitats del Departament a partir de 1988. En aquest Departament va realitzar la seva tesi doctoral dirigida pels professors Francesc Illas i Ramon Pouplana sobre el tema *Estudio del mecanismo de actuación del receptor H2 de la histamina a través de los métodos de la Química Cuántica*.

L'any 1988 va realitzar un Màster de Bioquímica i Biologia Molecular a la Universitat Autònoma de Barcelona. Va obtenir el títol de

doctor l'any 1990 en aquesta mateixa Universitat amb la qualificació d'Apte *cum laude*.

Va realitzar estàncies post-doctorals a l'Escola Politècnica Federal de Zurich l'any 1992 (3 mesos), a la Universitat de Pisa l'any 1995 (2 mesos), i a la Universitat Henry Poincaré de Nancy (3 mesos).

Ha realitzat tota la seva labor docent i investigadora adscrita al Departament de Físicoquímica de la Facultat de Farmàcia, primer com a Professor Ajudant des de 1988 i com a Professor Títular a partir de 1991 al obtenir per oposició aquesta plaça. Des de l'any 2003 és Catedràtic d'aquest Departament. Durant tots aquets anys ha col·laborat amb gran responsabilitat i eficàcia en l'activitat docent i molt especialment en la recerca, havent format i dirigit un grup reconegut internacionalment.

El seu esforç per reeixir en l'objectiu de relacionar l'estructura i la dinàmica de biomolècules amb la seva activitat biològica l'ha portat a dominar les tècniques més avançades de Química quàntica i de Dinàmica Molecular, així com de Disseny de Fàrmacs (mètodes *ab initio*, mètodes semiempírics, mètodes mixtes de química quàntica i mecànica molecular, models continus de solvatació, mètodes de modelització molecular i de simulació biomolecular, etc).

La qualitat de les seves publicacions li han servit de credencial per establir importants col·laboracions amb centres de recerca internacionals. En aquest sentit podem fer referència a dues estàncies de tres mesos com a Professor Convidat durant els anys 1998 i 1999 a la Universitat Henry Poincaré de Nancy.

És difícil posar en relleu la trajectòria científica del nostre nou Acadèmic en el temps necessàriament limitat d'aquesta presentació, però crec que pot servir per acreditar l'alt nivell tan qualitatiu com quantitatiu de la seva producció científica les següents dades:

Des de l'any 1990 en que va llegir la seva tesis doctoral fins a l'actualitat ha publicat prop de 250 articles científics en revistes d'elevat índex d'impacte, tals com Journal of the American Chemical Society, Proceedings of the National Academy of Sciences, Chemical Reviews, Accounts of Chemical Research, Chemistry European

Journal, Journal of Computational Chemistry, Journal of Physical Chemistry, i Journal of Medicinal Chemistry, entre altres.

També ha participat en la redacció d'una vintena de capítols de llibres sobre temes de la seva especialitat.

Ha participat en 50 projectes de recerca subvencionats, en 29 d'ells com investigador principal. En l'actualitat és investigador principal de tres projectes, un d'ells d'àmbit europeu del qual és Coordinador.

El reconeixement que ha assolit entre els investigadors del seu camp de recerca es posa en evidència al considerar les nombroses invitacions a pronunciar conferències en Universitats i Centres de Recerca no solament d'Espanya, si no també de França, Suïssa, Itàlia, Anglaterra, Xèquia, Portugal, Estats Units, etc.

Aquesta alta productivitat i el fet de ser un dels investigadors més citats en la literatura científica de la seva especialitat li ha reportat importants distincions, com el premi anual a joves investigadors del Col·legi de Químics de Catalunya l'any 1995 i la Distinció a la Recerca de la Generalitat de Catalunya com a Jove Investigador en el període 2000-2004. Tanmateix, ha rebut l'exempció de la seva tasca docent com a professor per potenciar la recerca a partir de l'any 2008.

El fet de quedar exempt de la docència en els cursos de pregrau no vol dir que no dediqui a la formació de nous investigadors una part important de la seva activitat, ja sigui en la realització de cursos i conferències com molt especialment en la direcció de tesis doctorals i de tesines o treballs de recerca. En aquest sentit ha dirigit 13 tesis doctorals, 2 treballs de tesina i més de 12 treballs d'investigació. Es tracta de una labor alhora docent i de recerca, que també cal destacar.

Ha intervingut com a membre de la comissió assessora de l'ANEP, i com avaluador per nombroses revistes d'àmbit internacional. És membre de l'equip editorial de la revista Theoretical Chemistry Accounts i ha estat editor convidat de la revista Biochimica Biophysica Acta. És membre de la Societat Espanyola de Bioquímica i Biologia Molecular i de la Societat Espanyola de Química Terapèutica, membre assessor del comitè de Grans Usuaris de Supercomputació

i del comitè d'experts per a la Contractació i Anàlisi en Supercomputació del Centre de Supercomputació de Catalunya.

Recentment ha patentat, en col·laboració amb l'Institut de Química Orgànica del Consell Superior d'investigacions Científiques, els resultats d'una recerca que afecten a dues malalties desgraciadament de gran incidència en els moments actuals. El títol de la patent és *Nous derivats de propargilamina amb capacitat neuroprotectora pel tractament de les malalties d'Alzheimer i de Parkinson.*

L'activitat científica i universitària del Dr. Luque s'ha caracteritzat per l'esforç, el rigor i l'entrega continuada. Però un curriculum de la magnitud que presenta el Dr. Luque, amb els imprescindibles viatges continuats a l'estranger, requereix una complicitat de la seva família, especialment de la seva muller, Pilar, i també dels seus dos fills, Daniel i Arnau, a qui vull fer extensiva la meua felicitació.

Excel·lentíssim Sr. President
Molt il·lustres senyores i senyors acadèmics
Senyores i senyors

Amb les meves paraules de presentació, necessàriament breus, he volgut cenyir-me a la més estricta objectivitat, evitant expressions elogioses que puguin semblar motivades per l'amistat que ens uneix des de fa molt temps. No obstant, crec que la presentació no seria completa sense posar de manifest el seu elevat sentit de la responsabilitat i de la rectitud, així com el seu caràcter afable i el seu bon estil en les relacions humanes, que es manifesten tant en les seves relacions familiars com a pare i marit, com en el tracte amb els companys i col·laboradors.

Sols em resta invitar-lo a participar en les activitats de la nostre Acadèmia, que des d'avui és també la seva.

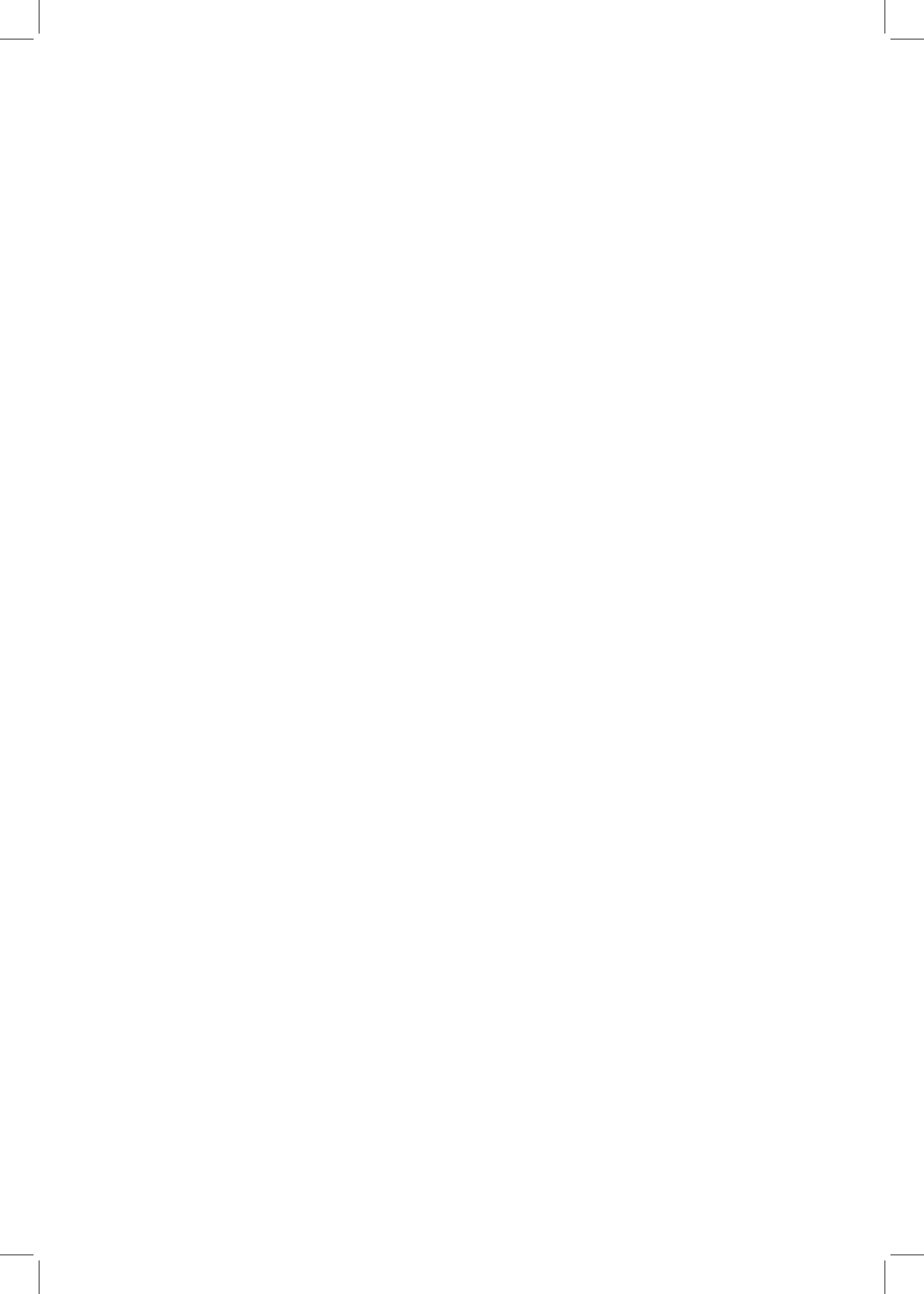
He dit. Moltes gràcies per la seva atenció.



**LA QUÍMICA COMPUTACIONAL EN
DISSENY DE FÀRMACS**

DISCURS

llegit a l'acte d'ingrés de l'Acadèmic Corresponent
Il.lustre Dr. F. Xavier Luque Garriga



AGRAÏMENTS

Excel·lentíssim Sr. President
Molt il·lustres senyores i senyors acadèmics
Senyores i senyors

Desitjo en primer lloc agrair a l'Excel·lentíssim Senyor President de la Reial Acadèmica de Farmàcia de Catalunya, Dr. Josep Maria Ventura Ferrero, a aquells que van avalar la proposta de la meva nominació – els Drs. Oriol Valls, Assumpció Alsina i Jordi Bolós –, i a tots els acadèmics d'aquesta institució el fet d'haver acceptat el meu ingrés com a acadèmic corresponent. Per a mi suposa un gran honor i espero en el futur representar dignament a aquesta institució.

Aprofito també l'avinentesa per a saludar i agrair la resta de persones assistents la seva presència en aquest acte.

Per a mi és un moment molt emotiu trobar-me en aquesta tribuna dins del magnífic marc de la Reial Acadèmia de Farmàcia de Catalunya. No obstant, abans de presentar el discurs d'entrada, voldria aprofitar aquesta ocasió per manifestar l'agraïment a totes aquelles persones que directa o indirectament han contribuït a la meva trajectòria acadèmica en l'aplicació de la Química Computacional al disseny de fàrmacs.

Voldria esmentar els meus companys a la Facultat de Farmàcia de la Universitat de Barcelona, no només al Departament de Físic-química, sinó també d'altres departaments, amb qui he compartit projectes de recerca engrescadors.

Tanmateix, he de fer referència a l'equip de persones que han confiat en mi per iniciar-se en la recerca del medicament fent servir les

eïnes de la modelització i simulació biomolecular i que han contribuït al desenvolupament de nombrosos projectes de recerca. No esmentaré els noms de tots els joves investigadors que han passat pel nostre grup de treball. Permetin-me, però, fer palés el meu agraïment per compartir tantes discussions apassionants dia rera dia.

Seria injust no fer cap referència als meus mentors, el Dr. Ramon Pouplana, membre de la Reial Acadèmica de Farmàcia de Catalunya, i el Dr. Francesc Illas, ambdós professors de la Universitat de Barcelona. Gràcies per haver-me iniciat en l'aplicació de la Química Quàntica en el camp de les relacions estructura-activitat.

Finalment, vull compartir aquest moment amb la meva dona, Pilar, pel seu suport al llarg d'aquests anys, i als meus pares, Antonio i Maria, pel seu incondicional recolzament en la meva etapa doctoral.

ÍNDEX

Reconeixement lligand-receptor	pàg. 16
Disseny basat en lligand.....	pàg. 19
Docking i rastreig virtual.....	pàg. 21
Disseny basat en l'estructura del receptor.....	pàg. 24
Predicció de propietats ADME	pàg. 26
Perspectives futures.....	pàg. 27

Poc després de la meua estada a l'Escola Politècnica de Zurich l'any 1992, vaig ser convidat a fer un seminari a la Universitat Autònoma de Barcelona, on havia dut a terme els meus estudis de la Llicenciatura en Química. Recordo que, en acabar la meua exposició, un antic professor va comentar-me que no coneixia cap fàrmac on les eïnes de la química computacional haguessin tingut un paper fonamental en el seu desenvolupament. Si bé aquesta observació podia ser vàlida en aquell moment, no tinc cap mena de dubte en afirmar que actualment seria totalment inadequada, doncs hi ha nombrosos exemples on la química computacional ha contribuït de forma decisiva al disseny de nous medicaments. De fet, no és exagerat asseverar que la química computacional impregna avui dia tots els aspectes del descobriment de fàrmacs.^{1,2}

Abans dels anys 80, el disseny de fàrmacs generalment implicava la síntesi de quantitats elevades (2-5 g) de compostos per dur a terme un ampli nombre d'assajos farmacològics en models animals escollits com estats representatius d'una malaltia. L'assaig *in vitro* d'enzims i receptors era força limitat, i la selecció de noves substàncies biològicament actives obeïa a regles de semblança amb fàrmacs coneguts, productes naturals o metabolits endògens. Els factors que determinaven l'èxit en la recerca de fàrmacs inclouïen una síntesi eficient, donada la quantitat de compost requerida pels assajos, la validesa predictiva dels models farmacològics, la capacitat d'identificar i optimitzar compostos líder fent servir assajos *in vivo*, i l'eliminació d'efectes colaterals no desitjats.

La dècada del 80 comportà un canvi en el procés del disseny de fàrmacs, fet que cal relacionar amb la disponibilitat de dianes moleculars individuals i el coneixement de la seva estructura tridimensional (Figura 1). Això va permetre fer èmfasi en la identificació de compostos que actuessin directament sobre la diana d'interès amb bona selectivitat, així com interpretar la seva activitat en funció de criteris estructurals i de reactivitat. Tanmateix, en aquest nou context els factors més crítics van esdevenir la identificació i optimització de compostos líder, juntament amb la minimització d'efectes colaterals, i un creixent interès en el control de l'absorció, distribució, metabolisme i excreció (ADME) per assolir una bona biodisponibilitat i una prolongada vida mitjana.

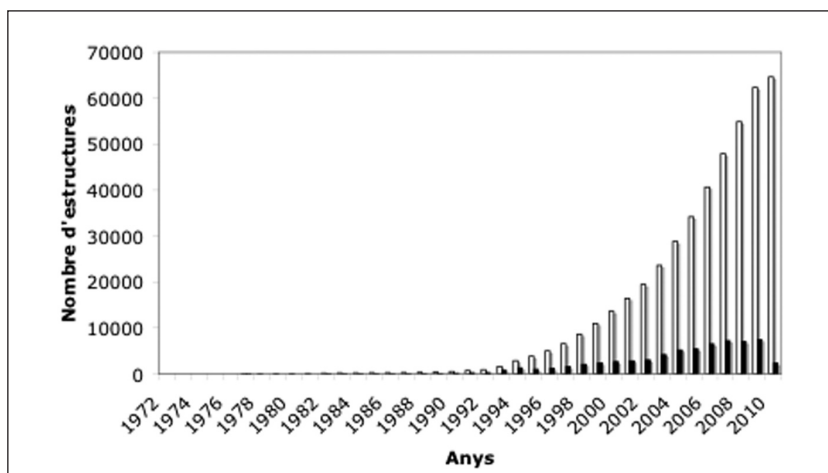


Figura 1. Evolució temporal del nombre d'estructures disponibles en el Protein Data Bank (PDB). El nombre d'estructures dipositades cada any es mostra en negre, i el valor acumulat en blanc.

Aquest canvi de paradigma ha estat enfortit per la consolidació de nous avenços tecnològics en biologia molecular i genòmica (com el clonatge i expressió de gens, o la disponibilitat de xips d'ADN), síntesi orgànica (química combinatòria aplicada a la generació de llibreries de compostos), assajos farmacològics (assajos *high-throughput* automatitzats), caracterització estructural (millora de les tècniques de raigs X i de RMN), i química computacional (tècniques quimioinformàtiques i bioinformàtiques).

El procés que condueix a un nou fàrmac es complex i requereix una aproximació multidisciplinària. Generalment s'inicia amb la identificació d'una diana biomolecular amb potencial valor terapèutic en base a estudis biològics, que inclouen una diversa gama d'experiments, com per exemple *knockouts* de determinats gens. Seguidament s'inicia l'exploració de llibreries de compostos amb la finalitat d'identificar compostos (*hits*) amb una activitat moderada, que idealment donarien lloc a una inhibició del 50% (IC_{50}) en el rang de concentració micromolar, però amb propietats estructurals i químiques prometedores pel seu desenvolupament. Cal doncs un procés d'optimització (*lead optimization*) per assolir un compost líder, que estigui caracteritzat amb un valor d'activitat en el rang nanomolar,

i que mantingui un perfil adequat per al seu desenvolupament farmacèutic.

La Química Computacional participa en molts aspectes del disseny de fàrmacs (Figura 2), ja sigui examinant *in silico* l'efecte de modificacions estructurals introduïdes en compostos sobre la seva interacció amb la diana farmacèutica, o bé creant models per predir propietats fisicoquímiques, com la solubilitat, i el seu comportament ADME. També permet crear models per homologia de dianes terapèutiques o caracteritzar les propietats del centre actiu, que determinaran l'afinitat d'unió amb els seus lligands. Tanmateix, dóna suport a l'organització de dades i la creació de llibreries de compostos per assajos virtuals. Finalment, cal afegir les eines de visualització molecular, que faciliten la interacció entre el químic computacional i la resta de professionals implicats en el procés de disseny.

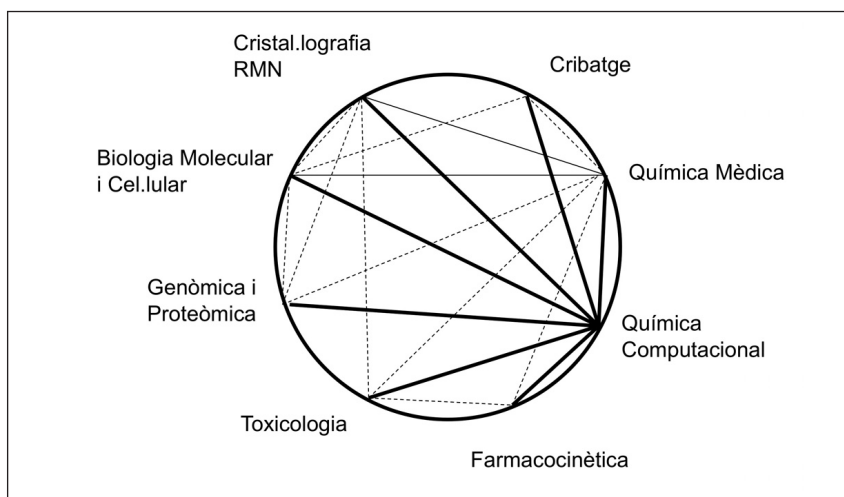


Figura 2. Estratègia multidisciplinària integrada en un programa actual de disseny de fàrmacs.

Reconeixement lligand-receptor

El reconeixement entre biomolècules és el punt de partida de gairebé tots els processos implicats en sistemes biològics. Més de 100 anys enrera, Emil Fischer ja va suggerir la importància d'aquest fet

quan va comparar la interacció entre lligand i receptor, que generalment corresponen a un compost de petita massa molecular i una macromolècula biològica com un enzim o una proteïna de membrana, amb l'encaix entre clau i pany (*“enzyme and glycoside must fit together like a key and a lock in order to initiate a chemical action upon each other”*).³

El reconeixement biomolecular es fonamenta en l'existència d'interaccions atractives específiques entre molècules. Les tècniques de disseny molecular pretenen identificar i optimitzar aquestes interaccions, fet que requereix el coneixement de les estructures 3D de lligand i receptor. Al seu torn, aquest procés d'optimització implica un coneixement de les geometries d'interacció i de les seves contribucions a la afinitat entre lligand i receptor. No obstant, el caracter no aditiu d'aquestes interaccions dificulta la possibilitat d'establir una associació directe entre interaccions específiques i el seu efecte en l'afinitat. Així, una mateixa interacció pot tenir contribucions energètiques molt diferents en diversos entorns moleculars.

El nostre coneixement de la relació entre l'estructura molecular i l'acció biològica ha canviat dràsticament gràcies al progrés experimentat en l'elucidació estructural de macromolècules biològiques, que queda reflectit en l'augment extraordinari del nombre d'estructures disponibles en base de dades com Protein Data Bank (PDB; vegeu Figura 1).⁴ Així, aquesta base de dades reuneix actualment prop de 65.000 estructures, de les quals gairebé 60.000 corresponen a proteïnes. La major part han estat resoltes per cristal·lografia de raigs X (al voltant de 52.000), però hi ha un nombre important d'estructures obtingudes amb ressonància magnètica nuclear (prop de 7.300). Tanmateix, cal notar l'existència d'un nombre encara petit, però significatiu d'estructures de complexes macromoleculars determinats amb microscopia electrònica (prop de 200).

La riquesa de la informació estructural continguda en el PDB constitueix la base de qualsevol disseny de compostos bioactius basat en estructura. Així, partint d'un model estructural del mecanisme de reconeixement i unió entre un compost i la seva diana, es pot dissenyar i desenvolupar un compost líder i assajar-lo experimentalment. Les dades obtingudes permetran verificar la hipòtesi formulada pel mecanisme d'acció i introduir canvis adients, que eventualment, mit-

jançant la repetició d'aquest cicle, conduiran a l'optimització estructural d'un nombre de compostos candidats a fàrmacs (Figura 3).

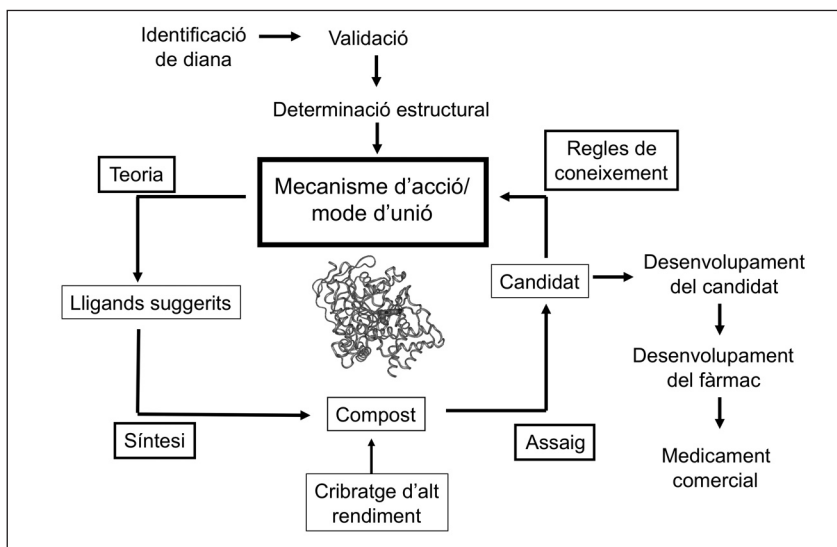


Figura 3. Representació esquemàtica de les etapes involucrades en el descobriment i desenvolupament de fàrmacs.

En aquest context, la capacitat de predir ràpida i acuradament l'afinitat del lligand pel seu receptor és fonamental per assolir amb èxit el descobriment de nous fàrmacs. L'afinitat d'unió reflecteix un delicat balanç entre factors entàlpics i entròpics, que plegats configuren l'energia de Gibbs d'unió.^{5,6} En primer lloc, l'afinitat depèn del conjunt d'interaccions establertes entre els grups químics presents en el lligand i la constel·lació de residus presents en el centre d'unió del receptor. Aquest terme inclou una gama diversa d'interaccions, que difereixen en la seva contribució energètica i la seva direccionalitat, incloent ponts salins, ponts d'hidrogen, catió- π , interaccions d'apilament, contribucions de van der Waals, enllaços d'halogen o interaccions multipolars ortogonals. En segon lloc, l'afinitat depèn de la desolvatació de lligand i receptor en el procés de formació del complex. Tanmateix, la interacció pot comportar canvis estructurals tant en el lligand com en el receptor. Finalment, cal considerar els canvis entròpics traslacional i rotacional lligats a la formació del complex, així com la pèrdua de flexibilitat conformacional intramolecular.

Generalment, aquest darrers factors tenen un impacte negatiu sobre l'afinitat, que cal compensar amb la contribució positiva deguda a l'energia d'interacció entre lligand i receptor. L'èxit en el disseny racional depen en gran mesura de l'optimització del balanç entre aquests factors. Això implica la definició d'una estructura química amb una distribució espacial de grups funcionals que maximitzi les interaccions entre lligand i receptor. Així, doncs, es pot establir una relació entre el grau de complementarietat estructural i l'activitat biològica del lligand.

Disseny basat en lligand

Malgrat els avenços esdevinguts en l'elucidació estructural de macromolècules, no sempre es coneix aquesta informació. En aquest escenari, l'aproximació racional al disseny de fàrmacs cal dur-la a terme mitjançant tècniques basades en les propietats dels lligands. La premisa fonamental és que l'afinitat entre lligand i receptor depen en últim terme de la naturalesa, distribució i característiques químiques dels grups funcionals presents en l'estructura del lligand, les quals deuen maximitzar la complementarietat amb els residus del centre d'unió del receptor. Per això, l'objectiu principal consisteix en establir una hipòtesi de farmacòfor basada en l'anàlisi de les diferències d'activitat biològica d'una sèrie de compostos actius sobre la mateixa diana en funció de les diferències de la seva estructura química.

Diversos mètodes de disseny basat en lligand asumeixen que la semblança en les propietats químiques dels lligands es reflecteixen en una semblança en la seva activitat biològica. En aquest context, hi ha mètodes que pretenen comparar molècules a un nivell elemental basat en descripcions mono- o bi-dimensionals fent servir descriptors topològics, on es descriu la presència o absència de grups funcionals en base a vectors binaris (*fingerprints*). Altres aproximacions es basen en la superposició de lligands seguint criteris de maximització de la semblança molecular, o bé en cerques de fragments subestructurals o en el compliment de requisits farmacofòrics. Generalment, aquestes estratègies prediuen l'afinitat d'unió en base a una escala qualitativa.

El marc de les relacions estructura-activitat permet obtenir prediccions quantitatives fonamentades en la identificació de correlacions entre les propietats dels compostos i les seves activitats biològiques. L'aproximació clàssica va ser establerta als anys 60 en els treballs de Hansch i Fujita,⁷ així com de Free i Wilson.⁸ Si bé conceptualment són mètodes ben establerts, les seves limitacions principals inclouen un rang d'aplicació limitat a sèries de compostos semblants estructuralment, així com la manca d'informació sobre la distribució espacial de les propietats que expliquen les diferències d'activitat, fet que és essencial per comprendre la interacció entre lligand i receptor. No obstant, aquesta metodologia ha permès el desenvolupament de molècules de gran rellevància farmacèutica, com testimonia el premi Nobel concedit l'any 1988 a Sir James W. Black per les seves contribucions al desenvolupament del propranolol i de la cimetidina.

Les limitacions de les relacions estructura-activitat clàssiques van ser corregides en gran part gràcies als mètodes de relacions estructura-activitat quantitativa en tres dimensions (3D-QSAR), on es correlacionen les diferències relatives en l'espai de lligands amb propietats com l'afinitat d'unió. Sens dubte, la metodologia 3D-QSAR més extesa es COMFA (Comparative Molecular Field Analysis),⁹ que va definir els trets fonamentals d'aquesta estratègia computacional. De fet, el treball original on es va proposar aquest mètode ha rebut fins avui més de 2000 cites bibliogràfiques.

COMFA fa servir camps moleculars electrostàtic i de van der Waals per caracteritzar el rang d'interaccions que pot formar un compost. Aleshores, fa la projecció d'aquests camps en l'espai que envolta els compostos. Finalment, analitza aquesta informació per identificar correlacions entre les diferències observades en els camps moleculars en determinades regions de l'espai i les diferències en activitat biològica, fent servir tècniques com PLS (*Partial Least Squares*). Com a pre-requisit, aquest mètode requereix disposar dels lligands en unes orientacions alineades que reflecteixen la seva conformació bioactiva en el centre d'unió del receptor.

A partir de la seva formulació, s'han desenvolupat diverses innovacions i millores metodològiques, tot mantenint els trets fonamentals indicants anteriorment. Entre aquestes millores, COMSIA (Comparative Molecular Similarity Index Analysis)¹⁰ és probablement la

tècnica que ha tingut més ressó. Respecte a COMFA, hi ha dues innovacions principals. D'una banda, fa servir un nombre major de camps moleculars, que inclouen formació de ponts d'hidrogen i la hidrofobicitat. D'altra banda, fa servir expressions modificades per dur a terme la projecció dels camps, a fi d'incrementar el caràcter local de la seva projecció en l'espai.

Les tècniques 3D-QSAR proporcionen una expressió matemàtica que expressa la relació entre activitat i camps moleculars. Tanmateix, permeten visualitzar gràficament aquelles regions de l'espai on les propietats moleculars tenen una rellevància particular en la modulació de l'activitat biològica. Comparades amb les tècniques clàssiques 2D-QSAR, permeten la comparació de lligands amb major diversitat química. Com a contrapartida, els resultats depenen de l'alineament inicial de les molècules i, d'altra banda, els camps moleculars emprats només descriuen essencialment certes contribucions entàlpiques a l'afinitat d'unió.

***Docking* i rastreig virtual**

Quan l'estructura de la diana és coneguda, la informació de la naturalesa i característiques del centre d'unió permet plantejar noves aproximacions al disseny de fàrmacs. Així, en primer lloc pot plantejar-se la possibilitat d'identificar compostos (*hits*) que, tot i tenint una activitat moderada (per exemple, amb una IC_{50} de l'orde 10 μ M), presentin una estructura química novedosa encara no explotada. D'altra banda, es pot explorar la possibilitat d'introduir canvis estructurals en el lligand amb la finalitat d'optimitzar la seva afinitat amb el receptor, fins assolir valors en el rang nanomolar.

La possibilitat d'identificar *hits* està estretament lligada al desenvolupament de tècniques de *docking*, que permeten dur a terme el rastreig (*screening*) virtual de llibreries de compostos amb la finalitat de seleccionar aquells que poden ser reconeguts en el centre d'unió, així com d'establir una puntuació per discriminar la seva afinitat pel receptor.¹¹ A la pràctica, el *docking* de lligands presenta reptes importants per a la química computacional, doncs cal fer una exploració exhaustiva de l'espai conformacional del lligand i del receptor, així com discriminar entre els diferents modes d'unió que

pugui adoptar un lligand determinat, i finalment estimar l'afinitat d'unió per diversos lligands amb el receptor.

A la pràctica, la bondat dels resultats de *docking* és limitada, fet que pot atribuir-se a diversos factors. Sense dubte, un dels aspectes més delicats és la dificultat d'explorar de forma completa els canvis conformacionals que puguin tenir lloc no només en el lligand, sinò també en el receptor, tant en les cadenes laterals de residus implicats en la unió del lligand com d'altres que representin canvis notables en la disposició de l'esquelet peptídic (Figura 4).¹²

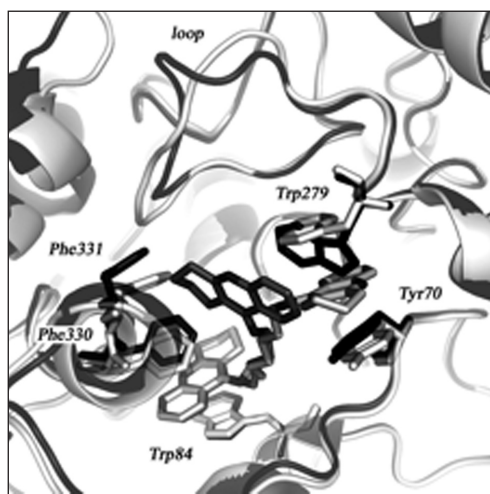


Figura 4. Representació del mode d'unió de *bis(5)-tacrina* (gris intens) i *bis(7)-tacrina* (gris clar) en els seus complexos amb l'enzim acetilcolinesterasa de *Torpedo californica*. Malgrat la seva semblança molecular, tots dos lligands adopten orientacions molt diferents en el centre perifèric de l'enzim, i s'observen canvis en l'orientació de residus com Trp279.

D'altra banda, no hi ha un algorisme eficient i ben establert per determinar si la interacció de determinats grups/fragments d'un lligand amb el receptor tindrà lloc de forma directa o bé involucrarà la participació de molècules d'aigua estructurals, que determinaran el correcte posicionament del lligand en el centre d'unió.¹³

Finalment, les funcions de puntuació implementades en els programes de *docking* deuen incloure tots els factors que modulen la afinitat d'unió, tot mantenint un formalisme computacional que permeti

l'exploració de milers de compostos de forma eficient. Generalment aquests funcions de puntuació poden agrupar-se en tres categories: empíriques, basades en coneixement, i basades en camps de força.

- a) Les funcions de puntuació empíriques empen expressions derivades empíricament fent servir diverses contribucions relacionades amb termes entàlpics i entròpics. Si bé son formalment intuïtives, el seu rang d'aplicabilitat ve determinat per la diversitat del conjunt de dades utilitzades per parametritzar les expressions incloses a la funció de puntuació.
- b) En el segon grup, l'afinitat d'unió ve descrita per un potencial efectiu de força mitja determinat a partir de les freqüències de contactes interatòmics identificats en l'anàlisi estadístic de bases de dades estructurals. La precisió d'aquests mètodes depen de la definició de l'estat de referència, així com de la naturalesa i del nombre d'estructures incloses en el desenvolupament del potencials interatòmics.
- c) Finalment, els mètodes basats en camps de força empen les expressions incloses en mètodes de mecànica clàssica, especialment per descriure les interaccions no-enllaçants, que venen avalades per l'elevada qualitat en la descripció estructural i energètica de proteïnes, lípids i àcids nucleics. No obstant, estan subjectes a limitacions com la transferabilitat dels paràmetres definits en el camp de força, i l'omissió de termes específics con la polarització o efectes de transferència de càrrega.

Actualment, el problema de generar orientacions realistes pel lligand en el centre d'unió sembla resolt satisfactòriament. No obstant, el reconeixement de geometries molt properes a les observades experimentalment, i especialment la predicció de les seves afinitats encara representa un repte. Això ha portat a la definició de puntuacions *consens*, on les diverses orientacions dels lligands són avaluades *a posteriori* fent servir diverses funcions per obtenir una puntuació promitjada.^{14, 15} D'altra banda, és evident que cal dedicar més esforç en determinar la bondat dels programes de *docking* a la diana subjecte d'estudi, calibrant per exemple la capacitat d'identificar el mode d'unió de lligands observat en estructures experimentals de complexos amb diversos lligands.

Malgrat aquestes limitacions, no hi ha cap dubte que les tècniques de *docking* són especialment valuoses per iniciar cerques de compostos que puguin interaccionar amb dianes conegudes, identificant nous esquelets estructurals (*scaffolds*) adients per al desenvolupament de fàrmacs, o bé amb noves dianes, contribuint a seleccionar compostos potencialment actius (*hits*). En aquest context, cal esmentar l'esforç dut a terme per diversos grups per desenvolupar bases de dades de compostos. Com a exemple, es pot citar la base pública per rastreig virtual anomenada ZINC, que va ser desenvolupada pel grup del Prof. Schoichet.¹⁶ Aquesta base conté actualment prop de 13 milions de compostos disponibles comercialment en format 3D per a la seva aplicació en rastreig virtual.

L'experiència acumulada en aquests anys ha demostrat que la combinació de programes de *docking* capaços de generar conformacions realistes de lligands i de predir amb precisió la seva afinitat d'unió, amb la disponibilitat de bases de dades estructurals de proteïnes i llibreries de compostos susceptibles d'esdevenir fàrmacs potencials, té un impacte indiscutible en el disseny de fàrmacs basat en estructura. Hi ha nombrosos estudis que testimonien aquest impacte. Com a exemple, es pot citar el treball dut a terme pel grup del Prof. W. L. Jorgensen sobre el bloqueig de la unió del factor inhibidor de la migració de macrofags amb el seu receptor CD74, doncs partint d'una base de 2.1 milions de compostos es van seleccionar 23 candidats, dels quals 11 van inhibir l'associació proteïna-proteïna amb una IC_{50} inferior a 5 micromolar.¹⁷

Disseny basat en l'estructura del receptor

La disponibilitat d'estructures del complex lligand-receptor proporciona informació detallada sobre les interaccions específiques que guien el reconeixement i la unió del lligand. Aquest interès queda reflectit en bases de dades estructurals com MOAD, que és l'acrònim de Mother of All Databases.¹⁸ MOAD és una base que conté un conjunt d'estructures del protein Data Bank representatives de complexos lligand-receptor d'alta qualitat (amb una resolució igual o inferior a 2.5 Å), juntament amb dades d'afinitat d'unió extretes de la literatura científica (valors d' IC_{50} , constants de dissociació, constant d'inhibició, etc). Actualment recull més de 13000 estruc-

tures de complexos lligand-receptor, més de 4000 estructures amb dades d'unió, i més de 6000 lligands.

La disponibilitat d'aquesta informació 3D és extremadament interessant per dur a terme l'optimització del compost líder. Això és factible gràcies a tècniques avançades que combinen l'ús de camps de força clàssica amb metodologies que permeten l'exploració configuracional exhaustiva del complex, incloent la representació de l'entorn que envolta el sistema,¹⁹ ja sigui en situació aquosa o bé en una membrana lipídica o agregats supramoleculares.

Entre aquestes tècniques, que representen la nova alquímia computacional, cal destacar les metodologies per avaluar canvis en l'energia de Gibbs, com la pertorbació d'energia lliure i la integració termodinàmica. Ambdues permeten explorar *in silico* l'efecte associat a la introducció de canvis en l'estructura química d'un lligand en la seva afinitat pel receptor fent servir cicles termodinàmics (Figura 5). La mutació alquímica entre lligands es porta a terme emprant un paràmetre d'acoblament, que permet simular la conversió gradual dels Hamiltonians que descriuen els compostos implicats, tot canviant tant les seves característiques geomètriques com el paràmetres recollits en el camp de força. Això, doncs, possibilita l'exploració de la modificació de substituents i/o grups funcionals presents en una determinada molècula pel que fa a la seva interacció amb la diana macromolecular.

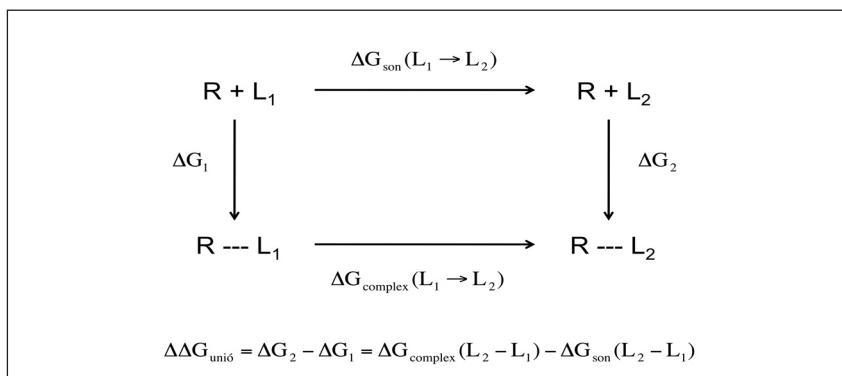


Figura 5. Cicle termodinàmic emprat per determinar l'efecte de canvis estructurals introduïts en un lligand sobre l'energia de Gibbs d'unió amb el seu receptor.

Tant la pertorbació d'energia lliure com la integració termodinàmica representen les tècniques més poderoses per predir afinitats relatives entre compostos, assolint una precisió al voltant de 1 kcal/mol. La seva major limitació, no obstant, és l'elevat cost computacional, doncs segons la grandària del sistema, la naturalesa de la mutació química i la potència de càlcul, pot representar diversos dies o setmanes de computació intensiva per un únic compost. Per això, gran part de l'esforç dut a terme en el darrer any s'ha dirigit cap al desenvolupament de metodologies alternatives que permetin reduir de forma significativa el cost computacional sense comportar una pèrdua important en la capacitat per predir diferències d'afinitat.

En aquest context, probablement les eines més emprades actualment són els mètodes MM/PBSA (Molecular Mechanics/Poisson-Boltzmann Solvent Accessible) o MM/GBSA (Molecular Mechanics/Generalized Born Solvent Accessible), que combinen una descripció discreta del complex lligand-receptor amb un tractament simplificat de l'entorn basat en un model continu.^{20,21} Així, aquests mètodes estimem l'energia de Gibbs d'unió combinant l'energia interna del complex lligand-receptor calculada a partir dels mètodes de la mecànica clàssica amb els efectes de solvatació del solvent, que al seu torn es descomposen en dos termes. D'una banda, la component electrostàtica, que avalua la interacció entre les densitats de càrrega del complex, receptor i lligand amb un medi continu polaritzable. D'altra banda, el terme no-electrostàtic, que s'avalua emprant relacions linears amb la superfície accessible al solvent.

Predicció de propietats ADMET

Si bé l'afinitat entre lligand i receptor és una de les característiques més importants en el desenvolupament d'un fàrmac, cada vegada és més evident la necessitat d'avaluar *a priori* les propietats farmacocinètiques, amb la finalitat d'excloure aquells compostos que puguin tenir problemes de biodisponibilitat, una metabolització inadequada, o generar problemes de toxicitat.²² En aquest sentit, la possibilitat de disposar de filtres adients per identificar compostos com bons candidats a fàrmacs és important per reduir la despesa lligada al desenvolupament de nous medicaments.

Gran part d'aquest interès cal atribuir-ho als estudis de Lipinski,²³ qui va suggerir un conjunt de regles per determinar les bones característiques dels compostos candidats a esdevenir fàrmacs. Essencialment, aquestes regles indiquen que la masa del compost ha de ser inferior a 500, el seu coeficient de partició octanol-aigua inferior a 5, tenir un nombre de grups donadors de pont d'hidrogen inferior a 5, i un nombre de grups acceptors de pont d'hidrogen inferior a 10. L'impacte d'aquests estudis ha estat tan gran que ha motivat la seva extensió a altres propietats, com la cerca de descriptors i regles per predir la capacitat de fàrmacs que han d'actuar en el sistema nerviós central per travessar la barrera hemato-encefàlica,²⁴ o per estimar la seva biodisponibilitat oral.²⁵

La identificació de les possibles biotransformacions metabòliques que pot sofrir un fàrmac són rellevants per comprendre la seva eficàcia farmacològica. Per això, s'està dedicant un esforç cada vegada més important per predir els processos metabòlics que pot experimentar un candidat a fàrmac, i determinar si és necessari modificar la seva estructura per incrementar la seva estabilitat química. Un exemple d'aquest esforç és el programa MetaSite,²⁶ que permet explorar en base a l'estructura del lligand possibles modificacions metabòliques lligades a la seva interacció amb citocroms.

La predicció de la toxicitat d'un compost és particularment delicada, doncs els efectes tòxics depenen de diversos factors, com l'òrgan on es troba la diana terapèutica i el temps d'acció considerat.²⁷ La toxicitat també pot estar lligada a una manca de selectivitat del compost, facilitant la seva interacció amb dianes diferents. Això és especialment important en dianes que pertanyen a famílies de proteïnes relativament grans, com ara quinases, proteases o receptors nuclears. També en aquests casos la química computacional intenta esbrinar la capacitat del compost per donar lloc a efectes colaterals portant a terme la caracterització del centre d'unió en diferents dianes, i examinat la possible interacció d'un lligand amb diversos centres d'unió mitjançant un rastreig invers.²⁸

Perspectives futures

Quan es pren en consideració l'enorme evolució experimentada per la Química Mèdica al llarg d'aquests anys, la seva consolidació com

a disciplina científica amb trets ben diferenciats, i el seu impacte en el disseny de medicaments dintre de la indústria farmacèutica, no és sorprenent que s'hagi proposat designar la segona meitat del segle XX com l'Era Farmacèutica,²⁹ de forma semblant al termes més comunment acceptats d'Era Atòmica o Era de l'Espai. Aquesta evolució inclou tanmateix la química computacional, que ha assolit un reconeixement propi, reconegut en els premis Nobel atorgats als Drs. W. Kohn i J. A. Pople l'any 1998. Malgrat aquests avenços, és evident que resten encara àrees que representen reptes per la química computacional i el seu impacte en el disseny de fàrmacs.

Un dels reptes més importants és la predicció acurada de l'afinitat d'unió. Els camps de força actuals generalment descriuen les interaccions intermoleculares combinant un terme electrostàtic basat en una expansió monopolar i un terme de van der Waals. Tot i els esforços duts a terme per incloure altres contribucions, com la polarització,³⁰ la seva capacitat per descriure correctament l'energia d'interacció és questionable. Diversos estudis han explorat l'aplicació de mètodes quàntics per a la seva avaluació.^{31,32} Tot i que aquesta estratègia comporta una millora en la descripció dels components energètics, la seva aplicació està limitada pel seu elevat cost computacional, fet que obliga a explorar mètodes combinats que fan una partició iterativa dels subsistemes quàntics (com els mètodes *divide-and-conquer*)³³ o que empen diversos nivells de teoria per a zones diferenciades del complex lligand-receptor, com l'estratègia ONIOM (*Our own N-layered Integrated Orbital and molecular Mechanics*).³⁴ Malgrat el seu cost, el desenvolupament de mètodes computacionalment eficients pot ser d'especial utilitat en les etapes que involucren un refinat acurat en l'optimització de fàrmacs.

Hi ha nombroses evidències sobre la necessitat de comprendre els aspectes dinàmics que modulen la interacció entre lligand i receptor. La imatge estructural obtinguda per cristal·lografia de raigs X no reflecteix adequadament la flexibilitat conformacional dels receptors, i la implicació que determinants canvis estructurals tenen en la unió de lligands.¹² Hi han casos on el lligand pot induir un canvi conformacional en el receptor; en altres casos sembla que el receptor existeix en un equilibri de diverses configuracions, i que el lligand s'uneix preferentment a una d'aquestes formes.³⁵ Comprendre la naturalesa d'aquests canvis i poder predir la seva implicació en el reconeixement de lligands és un dels reptes de la química

computacional, especialment quan aquets canvis impliquen alteracions en l'esquelet peptídic. Això explica l'interés per desenvolupar mètodes avançats d'exploració conformacional, que permetin explorar regions més exteses de l'espai conformacional mantenint un cost raonable, como els mètodes de intercanvi de rèpliques o de metadinàmica.³⁶⁻³⁸

Tot i que hi ha certa incertesa pel que fa al nombre de noves dianes disponibles a partir dels estudis de genòmica i proteòmica, cal esperar la identificació d'un nombre significatiu de noves dianes, que hauran de ser validades de cara a la seva aplicació en el disseny d'estratègies terapèutiques.³⁹ En aquesta àrea, la química computacional pot contribuir en la predicció i refinat estructural de les dianes fent servir diverses eïnes bioinformàtiques. Això és especialment important en casos on l'elucidació estructural experimentalment és problemàtica, com és el cas dels receptors de membrana. Tanmateix, una altra aplicació és la predicció de la susceptibilitat d'esdevenir una bona diana, és a dir, identificant centres catalítics o alostèrics capaços d'unir lligands i d'estimar l'afinitat màxima d'unió, doncs això permetrà determinar la capacitat per obtenir compostos que puguin interaccionar intensament amb la diana.⁴⁰

Finalment, la incorporació d'informació relativa a grans complexos multimèrics integrats en rutes de senyalització o xarxes reguladores ha de millorar el nostre coneixement de la resposta biològica d'un fàrmac.⁴¹ Sens dubte, això facilitarà una comprensió més completa i detallada de l'acció i eficàcia terapèutica d'un fàrmac, i obrirà noves perspectives en el desenvolupament de tractaments terapèutics innovadors.

Referències

1. Jorgensen, W. L. *Science* 2004; 303, 1813.
2. Maryanoff, B. E. *J. Med. Chem.* 2004, 47, 769.
3. Fischer, E. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* 1894, 27, 2985.
4. Berstein F. C.; Koetzle, T. F.; Williams, G. J.; Meyer, E. E., Jr.; Brice, M. D.; Rodgers, J. R.; Kennard, O.; Shimanouchi, T.; Tasumi, M. *J. Mol. Biol.* 1977, 112, 535.
5. Bissantz, C.; Kuhn, B.; Stahl, M. *J. Med. Chem.* 2010, 53, 5061.
6. Gohlke, H.; Klebe, G. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2002, 41, 2644.
7. Hansch, C.; Fujita, T. *J. Am. Chem. Soc.* 1964, 86, 1616.
8. Free, S. M.; Wilson, J. W. *J. Med. Chem.* 1964, 7, 395.
9. Cramer, R. D., III; Patterson, D. E.; Bunce, J. D. *J. Am. Chem. Soc.* 1988, 110, 5959.
10. Klebe, G.; Abraham, U.; Mietzner, T. *J. Med. Chem.* 1994, 37, 4130.
11. *In silico Screening*. Luque, F. J.; Barril, X. En *Protein Surface Recognition: Approaches for Drug Discovery* (Giralt, E.; Pec-zuh, M.; Salvatella, X.; eds.) John Wiley & Sons. 2008.
12. Spyrakis, F.; Bidon-Chanal, A.; Barril, X.; Luque, F. J. *Curr. Top. Med. Chem.* 2010, en premsa.
13. Spyrakis, F.; Kellogg, G. E.; Amadasi, A.; Cozzini, P. En *Frontiers in drug design and discovery*. Bentham Science Publisher, 2007, pp. 317.
14. Charifson, P. S., Corkery, J. J., Murcko, M. A. and Walters, W. P. *J. Med. Chem.* 1999, 42, 5100.
15. Bissantz, C., Folkers, G. and Rognan, D. *J. Med. Chem.* 2000, 43, 4759.
16. Irwin, J. J.; Schoichet, B. K. *J. Chem. Inf. Model.* 2005, 45, 177.
17. Cournia, Z.; Leng, L.; Gandavadi, S.; Du, X.; Bucala, R.; Jorgensen, W. L. *J. Med. Chem.* 2009, 52, 416.
18. Hu, L.; Benson, M. L.; Smith, R. D.; Lerner, M. G.; Carlson, H. A. *Proteins* 2005, 60, 333
19. Orozco, M.; Luque, F. J. *Chem. Rev.* 2000, 100, 4187.
20. Stoica, I.; Sadiq, S. K.; Coveney, P. V. *J. Am. Chem. Soc.* 2008, 130, 2639.

21. Lyne, P. D.; Lamb, M. L.; Saeh, J. C. *J. Med. Chem.* 2006, 49, 4805.
22. Hou, T.; Wang, J.; Zhang, W.; Xu, X. *J. Chem. Inf. Model.* 2007, 47, 460.
23. Lipinski, C. A. *Adv. Drug. Deliv. Rev.* 1997, 23, 3.
24. Prasad, P.; Verma, J. J. *J. Chem. Inf. Model.* 2006, 46, 289.
25. Veber, D. F.; Johnson, S. R.; Cheng, H. Y.; Smith, B. R.; Ward, K. W.; Kopple, K. D. *J. Med. Chem.* 2002, 45, 2615.
26. Cruciani, G.; Carosati, E.; De Boeck, B.; Ethirajulu, K.; MacKie, C.; Howe, T.; Vianello, R. *J. Med. Chem.* 2005, 48, 6970.
27. Merlot, C. *Curr. Opin. Drug. Discov. Dev.* 2008, 11, 80.
28. Aumann, T.; Matter, H. *J. Med. Chem.* 2002, 45, 2366.
29. Maryanoff, B. E. *J. Med. Chem.* 2009, 52, 3431.
30. Luque, F. J.; Dehez, F.; Chipot, C.; Orozco, M. *WIRES* 2011, 1, en prensa.
31. Grater, F.; Schwarzl, S. M.; Dejaegere, A.; Fischer, S.; Smith, J. C. *J. Phys. Chem. B* 2005, 109, 10474.
32. Soderhjelm, P.; Aquilante, F.; Ryde, U. *J. Phys. Chem. B* 2009, 113, 11085.
33. Raha, K.; Merz, K. M., Jr. *J. Amer. Chem. Soc.* 2004, 126, 1020.
34. Vreven, T.; Morokuma, K. *Ann. Rep. Comp. Chem.* 2006, 2, 35.
35. Valente, A.P.; Miyamoto, C.A.; Almeida, F.C. *Curr. Med. Chem.* 2006, 13, 3697.
36. Liwo, A.; Czaplowski, C.; Oldziej, S.; Scheraga, H. A. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 2008, 18, 134.
37. Sugita, Y.; Okamoto, Y. *Chem. Phys. Lett.* 1999, 314, 141-151.
38. Laio, A.; Parrinello, M. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2002, 99, 12562.
39. Overington, J. P.; Al-Lazikani, B.; Hopkins, A. L. *Nat. Rev. Drug. Disc.* 2006, 5, 993.
40. Seco, J.; Luque F. J.; Barril, X. *J. Med. Chem.* 2009, 52, 2363.
41. Aloy, P.; Russell, R. B. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 2006, 7, 188.

