

TAMIZAJE VIRTUAL: UNA METODOLOGÍA COMPUTACIONAL PARA LA BÚSQUEDA E IDENTIFICACIÓN DE NUEVOS FÁRMACOS.

Ahtziri Socorro Carranza-Aranda. Maestría en Ciencias en Innovación Biotecnológica, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C (CIATEJ).

Correo electrónico: ahtziricarranza19@gmail.com

Aldo Segura-Cabrera. Doctor en Ciencias. The European Bioinformatics Institute (EMBL-EBI). Correo electrónico: asegura@ebi.ac.uk

Albertina Cárdenas-Vargas. Doctora en Ciencias Biomédicas. Posdoctorado, Centro de Investigación, Diseño y Asistencia en Tecnología del Estado de Jalisco (CIATEJ), Unidad Biotecnología Médica y Farmacéutica. Correo electrónico: albertinacv19@gmail.com

Sara Elisa Herrera-Rodríguez. Doctora en Ciencias. Investigador Titular A, Centro de Investigación, Diseño y Asistencia en Tecnología del Estado de Jalisco (CIATEJ), Unidad Biotecnología Médica y Farmacéutica. Correo electrónico: sherrera@ciatej.mx

RESUMEN

Los fármacos son compuestos que modifican funciones del organismo con el fin de aliviar o prevenir enfermedades. La identificación de nuevos compuestos permite el desarrollo y mejora de los tratamientos actuales. El proceso convencional para la obtención de fármacos llamado "Cribado de alto rendimiento" (HTS), implica un periodo extenso de trabajo (semanas a meses), además, requiere de gran infraestructura. Una alternativa que ha resultado exitosa, es el tamizaje virtual basado en la estructura proteica (SBVS), el cual evalúa y analiza por medio de herramientas computacionales las interacciones moleculares entre un gran número de compuestos y una proteína específica, mediante la técnica denominada "Docking". Existen estudios exitosos realizados por universidades, centros de investigación y farmacéuticas, donde se ha demostrado que herramientas como el HTS en combinación con tecnologías de inteligencia artificial hacen más eficiente el reposicionamiento de fármacos, por lo tanto, la mejora en el desarrollo y obtención de nuevos medicamentos para las terapias actuales.

Palabras clave: HTS, SBVS, Drugs, Docking, Interacciones moleculares.

Abstract

Drugs are compounds that modify functions of the organism in order to alleviate or prevent diseases. The identification of new compounds allows the development and improvement of current treatments. The conventional process for obtaining drugs called "High Performance Screening" (HTS), involves an extended period of work (weeks to months), in addition, requires great infrastructure. An alternative that has been successful, is the virtual screening based on the protein structure (SBVS), which evaluates and analyzes by means of computational tools the molecular interactions between a large number of compounds and a specific protein, by means of the technique called "Docking". There are successful studies carried out by universities, research centers and pharmaceutical companies, where it has been demonstrated that tools such as HTS in combination with artificial intelligence technologies make drug repositioning more efficient, therefore, the improvement in the development and obtaining of new medicines for the current therapies.

Key words: HTS, SBVS, Drugs, Docking, Molecular interactions.



I. INTRODUCCIÓN

Un fármaco es una sustancia capaz de modificar tanto la estructura como las funciones de un organismo o parte de este, con el fin de aliviar o prevenir enfermedades (Flórez, 1998). El origen de los fármacos puede ser tanto naturales, como sintetizados por el hombre (Cortez-Gallardo, et. al, 2004).

Para el sector salud, el descubrimiento o diseño de nuevas sustancias farmacológicas es de suma importancia, ya que, su objetivo principal mejorar la salud de la población, para incrementar su calidad de vida. Por lo tanto, la búsqueda, identificación y diseño racional de fármacos, se enfoca en la implementación de nuevos tratamientos o bien, complementar los existentes, con la finalidad de aumentar su eficiencia y reducir la toxicidad de los mismos. para obtener menores efectos adversos (Secretaria de Salud, 2002). Por lo tanto, para la identificación de compuestos con actividad relevante para ciertas enfermedades, se han desarrollado diversas metodologías con el fin de identificar y evaluar la acción en concreto de los fármacos con características deseables.

2. METODOLOGÍAS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE FÁRMACOS

De manera convencional, el diseño de fármacos se ha realizado desde los años 80s, por medio de proceso denominado “Tamizaje de alto rendimiento” o por sus siglas en ingles HTS (High-Throughput Screening), el cual, con apoyo en bibliotecas de miles de compuestos, se realizan ensayos de laboratorio, para determinar su actividad y eficiencia en sistemas vivos (cultivos celulares y modelo animal). Sin embargo, los HTS se caracterizan por ser procesos extensos que involucran meses de experimentos y análisis de datos. El proceso completo para el desarrollo un medicamento lleva de 10 a 17 años y se dividen en tres etapas (preclínica, clínica y mercado) (Plewczynski, et. al, 2010; Cronk, 2012; Lill, 2013; Nordberg, et. al, 2014) (Figura 1):

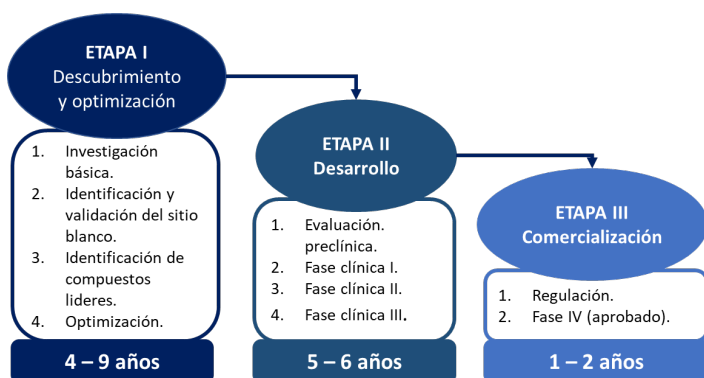


Figura 1. Fases del desarrollo de un medicamento

Cada etapa conlleva un gran trabajo, además, los resultados pueden no ser satisfactorios. Por ejemplo, un candidato a fármaco puede ser exitoso en la mayoría de las fases de investigación preclínica; sin embargo, cuando es evaluado en pacientes resulta no ser efectivo o causa efectos adversos que no fueron observados o previstos en las fases de investigación en laboratorio. Así, después de más de 10 a 17 años de investigación y haber gastado más de 2 billones de dólares, el candidato no llegara al mercado, lo que implica una pérdida económica significativa para las compañías. Por lo que, a partir del uso de la tecnología y la computación ha favorecido la implementación de una metodología para la identificación de compuestos químicos con las características deseadas, con mayor eficiencia, menor tiempo y recursos económicos, denominado “Tamizaje virtual intensivo basado en la estructura proteica (SBVS)” (Medina-Franco et. al, 2015).

3. TAMIZAJE VIRTUAL INTENSIVO BASADO EN LA ESTRUCTURA PROTEICA (SBVS)

El SBVS, consiste en el análisis de forma virtual de las interacciones que pueden existir entre dos moléculas (compuesto químico-proteína o proteína-proteína). El punto de partida para el tamizaje virtual, es el conocimiento previo de la estructura de la proteína y el sitio de interés (sitio blanco), en el cual se llevará a cabo las interacciones con los compuestos químicos. Mediante esta metodología se pueden realizar modificaciones en la estructura molecular y mejorar las interacciones entre los compuestos (ligandos) y el blanco molecular (proteína). Plewczynski, et. Al, 2010; Medina-Franco et. al, 2015; Saldívar-González, et. al, 2016).

El tamizaje virtual, presenta diversas ventajas en relación con los HTS, dado que todo ocurre en un ambiente virtual, no se requiere de una gran infraestructura física para seleccionar los compuestos candidatos. Con lo que se permite establecer un modelo computacional para la identificación y obtención de moléculas con potencial acción biológica (Ashburn y Thor, 2004; Cheng, et. al, 2012; Lill, 2013).

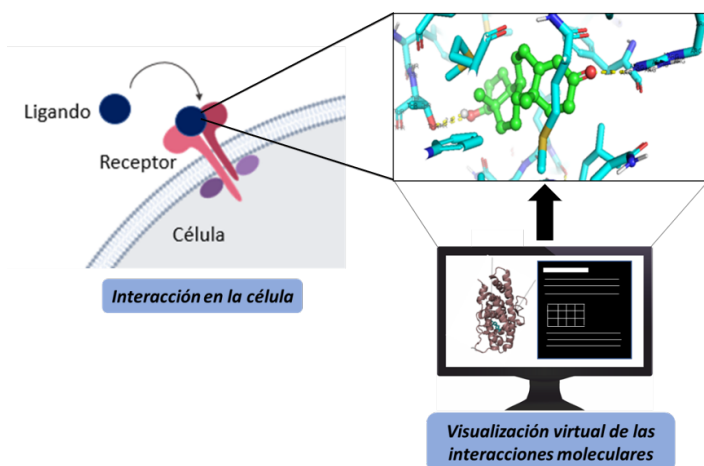
Por lo tanto, las metodologías virtuales, son una herramienta importante en la actualidad, ya que, reduce tanto el tiempo y costos en el desarrollo e identificación de nuevos fármacos con alta posibilidad de ser incorporados en las terapias actuales de diversas enfermedades de gran impacto en la sociedad, como lo son el cáncer de mama (CaMa) y el cáncer de próstata (CaP) (Aguirre-Alvarado, et. al, 2015; Dilly, et. al, 2017) (Tabla 1).

Tabla 1. Ventajas y desventajas del tamizaje virtual basado en la estructura proteica (SBVS).

Ventajas	Desventajas
Costos bajos	Limitado a la cantidad y diversidad de información de las bases de datos.
Una gran cantidad de moléculas analizadas	Uso de equipo de cómputo especializado cuando la cantidad de moléculas es elevada.
Poca infraestructura	
Identificación de un sitio específico de interacción entre proteína - ligando.	

3.1. Docking (acoplamiento molecular).

Para la realización del SBVS, se utiliza la técnica denominada "Docking" o "Acoplamiento molecular", la cual consiste en la evaluación de las interacciones moleculares ligando-proteína, para lograr la identificación de compuestos químicos que hayan presentado interacciones moleculares favorables (potencial afinidad) a una estructura proteica. En dichas interacciones se toma en cuenta la naturaleza de la proteína de interés y de los compuestos químicos a analizar (composición y cargas atómicas), para lograr mimetizar de forma virtual el medio molecular y contar con un acercamiento óptimo para comprender las interacciones de los complejos formados e inferir lo que podría suceder en un sistema vivo (ensayos *in vitro* e *in vivo*) (Padilla y Rojo,

**Figura 2.** Visualización esquemática del tamizaje virtual

2002; Ashburn y Thor, 2004) (Figura 2).

El docking, es una técnica rápida y eficiente para la selección de las moléculas y la evaluación de los complejos resultantes entre la proteína y los ligandos analizados. Además, es posible analizar desde 1 hasta 100,000 ligandos en un mismo análisis y en poco tiempo (cuestión de días, aproximadamente). Sin embargo, esta técnica es limitada por la cantidad y diversidad de información de compuestos químicos disponibles comercialmente, y la disponibilidad de la estructura proteica de interés (receptor) en las bases de datos. (Ashburn y Thor, 2004; Lill, 2013).

Otra aproximación que se realiza con dicha técnica, involucra la creación de compuestos virtuales; es decir, compuestos que aún no han sido creados en el laboratorio. Así, en

caso de que alguno sea identificado para la enfermedad de interés, se procede a su creación en el laboratorio (síntesis).

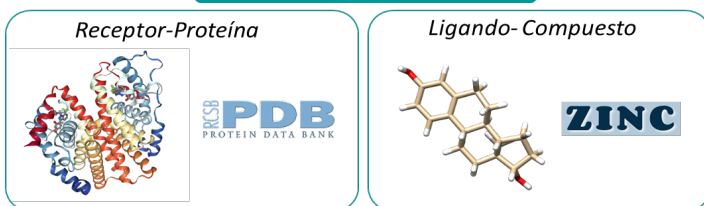
3.2. Pasos del acoplamiento molecular (Docking).

El docking se divide en cuatro etapas (Padilla y Rojo, 2002; Plewczynski, et. al, 2010); la primera etapa consiste en la obtención de las estructuras proteicas a partir de bases de datos existentes, como Protein Data Bank (PDB) (<https://www.rcsb.org/>). Esta base de datos, alberga una gran cantidad de estructuras tridimensionales (3D) de proteínas, lo cual es un requerimiento indispensable para la realización de simulaciones de docking (Berman et. al 2000). Del mismo modo, es necesario obtener las estructuras tridimensionales de los compuestos químicos que interaccionaran en el receptor, por ejemplo, de la base de datos ZINC 15 (<http://zinc15.docking.org/>), la cual contiene cerca de 230 millones de compuestos comerciales en formato 3D. Además, dicha base de datos es de libre acceso, lo cual favorece en las investigaciones de compuestos de forma virtual (Irwin et. al, 2012). La segunda etapa, se centra en la identificación del sitio específico donde se llevará a cabo el acoplamiento entre el compuesto y la proteína. En la tercera etapa, se lleva a cabo el acoplamiento molecular por medio de programas especializados de docking, los cuales existen tanto de acceso libre como privados, por ejemplo: Surflex (Jain, 2003); LigandFit (Venkatachalam, et. al, 2003), AutoDock (Morris, et. al, 1998) entre otros. Este último, ha sido utilizado en diversos estudios de acoplamiento molecular, principalmente la versión llamada Autodock Vina, por ser de libre acceso y de uso amigable, aunado a que mejora significativamente la precisión promedio de las predicciones de las interacciones entre los compuestos y la proteína de interés (Trott y Olson, 2010). Por último, en la cuarta etapa se realiza el análisis de los resultados (identificación de complejos con interacciones favorables) y la visualización de los complejos formados con alto puntaje (Figura 3).

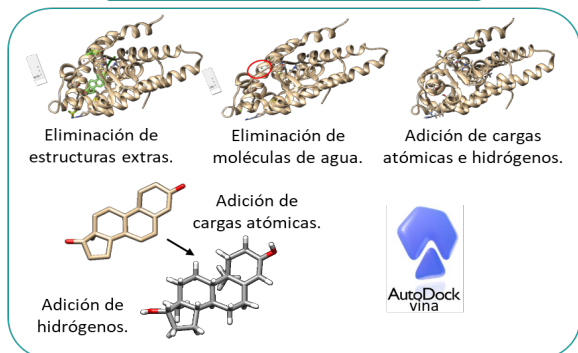
4. REPOSICIONAMIENTO DE FÁRMACOS

Los métodos computacionales SBVS son muy útiles para diseñar e identificar nuevos fármacos. Aunado a lo anterior, la metodología SBVS también permite identificar nuevos usos de fármacos que son administrados para una patología diferente a la cual fue creado o bien, nuevos usos a fármacos descontinuados. Esto último se conoce como reposicionamiento de fármacos por cribado virtual (Saldívar-González et. al, 2016). Existen diversos estudios de reposicionamiento de fármacos donde se utiliza las metodologías computacionales. Por ejemplo, el estudio realizado por Aguirre-Alvarado y colaboradores (2015), donde se logró identificar a un compuesto llamado Etopósido, como compuesto candidato a fármaco contra el cáncer de mama.

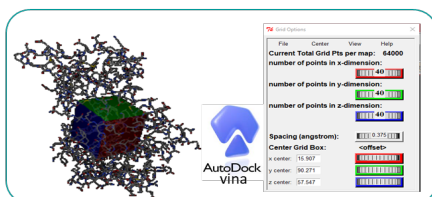
1. Obtención de estructuras



2. Preparación de las estructuras



3. Identificación del sitio de unión



4. Resultados y visualización de las interacciones de los complejos

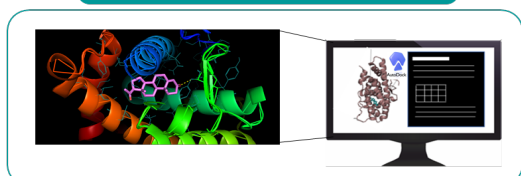


Figura 3. Proceso del tamizaje virtual usando "Docking"

Otro estudio de reposicionamiento virtual fue realizado por Dilly y colaboradores (2017), en el cual lograron identificar la Risperidona como potencial fármaco para el tratamiento contra el cáncer de próstata (CaP), en dicho estudio evaluaron la actividad del compuesto de forma experimental y observaron la disminución el crecimiento de las células de CaP (PC3).

Actualmente, nuestro grupo de trabajo, está enfocado en la búsqueda de compuestos candidatos contra el CaP, por medio de metodologías computacionales para el reposicionamiento de fármacos existentes y discontinuados. Para este tipo de trabajo se ha formado un grupo interdisciplinario, con participación de investigadores nacionales e internacionales, con el fin obtener compuestos químicos candidatos contra CaP y validar experimentalmente su actividad.

Es importante remarcar que los métodos computacionales no reemplazan a los experimentales; por el contrario, son un complemento para el éxito de la obtención de un fármaco candidato y este pueda ser empleado. Además, todas las

predicciones computacionales seleccionadas deben ser corroboradas en laboratorio.

Por lo tanto, el tamizaje virtual enfocado al reposicionamiento, es una estrategia útil para el proceso de identificación de compuestos químicos candidatos, ya que integra el conocimiento biológicos, fisicoquímico e informático de las interacciones moleculares, al procesar de forma eficiente y rápida, grandes cantidades de información, lo que favorece la identificación de compuestos para su validación en el laboratorio, con lo que se minimiza el tiempo de aprobación de los compuestos para su salida al mercado y su uso en diversas enfermedades.

5. INTELIGENCIA ARTIFICIAL

De forma conjunta al SBVS, existe una nueva tendencia en la industria farmacéutica, denominada "Inteligencia artificial". Esta se apoya en metodologías computacionales para la identificación tanto de compuestos químicos candidatos a ser fármacos, como para diseñar compuestos nuevos o, para el diagnóstico de enfermedades. Existen diversos programas basados en inteligencia artificial usados por farmacéuticas. Por ejemplo, el programa computacional ReLeaSE el cual permite crear y evaluar nuevas moléculas desde cero (Popova et. al, 2018).

A pesar del escepticismo del impacto de la inteligencia artificial en la generación de nuevos fármacos, el número de publicaciones y aplicaciones basadas en esta tecnología sigue en aumento. Esta tendencia ha dado lugar a la creación de departamentos dedicados a esta tarea en la industria farmacéutica y de compañías dedicadas exclusivamente al desarrollo de medicamentos basados en inteligencia artificial como por ejemplo BenevolentAI (2013-2018) (<https://benevolent.ai/>) y Exscientia (2012-2019) (www.exscientia.co.uk) en Reino Unido; Atomwise (2019) (www.atomwise.com) en Estados Unidos (Fleming, 2018).

6. CONCLUSIONES

El uso de la estrategia computacional SBVS, es una alternativa a los métodos convencionales de identificación de fármacos (HTS), la cual presenta grandes ventajas, como reducción del tiempo de identificación de compuestos, la eficiencia y costos, permitiendo acelerar el proceso al incrementar la posibilidad de que los fármacos salgan al mercado en menor tiempo. Aunado a lo anterior, el reposicionamiento virtual de fármacos, facilita la implementación de nuevos tratamientos para diversas enfermedades en menor tiempo. De igual forma, el uso de la inteligencia artificial ha permitido la generación de nuevos compuestos candidatos para diversas enfermedades. Por lo tanto, todo lo anterior se traduciría en la obtención racional y eficaz de fármacos, lo que mejoraría los tratamientos actuales, por lo tanto, la calidad de vida de los pacientes, proporcionado fármacos más asequibles a la población.

AGRADECIMIENTOS

Agradecimientos al Dr. Rodolfo Hernández Gutiérrez, a la M.C Flor Yohana Flores Hernández por el apoyo brindado, al Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco por brindar las instalaciones para la realización de proyecto y a CONACYT, por la beca nacional otorgada para la realización de mi posgrado.

BIBLIOGRAFÍA

Aguirre-Alvarado, C., Segura-Cabrera, A., Velázquez-Quesada, I., Hernández-Esquivel, M.A., García-Pérez, C.A., Guerrero-Rodríguez, S.L., Ruíz-Moreno, A.J., Rodríguez-Moreno, A., Pérez-Tapia, S.M., and Velasco-Velázquez, M.A. 2016. Virtual screening-driven repositioning of etoposide as CD44 antagonist in breast cancer cells. *Oncotarget*. 7(17):23772-23784.

Ashburn, T, and Thor, K. 2004. Drugs repositioning identifying and developing new use for existing drugs. *Nat Rev Drug Discov.*; 3:673-683.

Atomwise. 2019. Artificial Intelligence for Drug Discovery. San Francisco California. Available from <https://www.atomwise.com/> (Fecha de revisión 1 marzo 2019).

Berman, H.M., Westbrook, J., Feng, Z., Gilliland, G., Bhat, T.H., Weissing, H., Shindyalov I.N., and Bourne P. E. 2000. The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Res.* 28 (1): 235-242.

BenevolentAI. 2019. From Data to Medicines. Reino Unido. Available from <https://benevolent.ai/> [Fecha de revisión 1 marzo 2019].

Cheng, T., Li, Q., Zhou, Z., Wang, Y., and Bryant, S.H. 2012 Structure-based virtual screening for drug discovery: a problem-centric review. *AAPS J.* 14(1): 133-141.

Cortez-Gallardo, V., Macedo-Ceja, P., Hernández-Arroyo, M., Arteaga-Aureoles, D., Espinosa-Galván, D. and Rodríguez-Landa, J.F. 2004. Farmacognosia: Breve historia de sus orígenes y su relación con las ciencias médicas. *Rev Biomed.* 15:123-136.

Cronk, D. 2012. Chapter 8: High-throughput screening. In: *Drug Discovery and Development*. R.G. Hill and H.P. Rang. 2da Edición. Churchill Livingstone. ISBN: 978-0-7020-4299-7.

Dilly, S.J., Clark, A.J., Marsh, A., Mitchell, D.A., Cain, R., Fishwick, C.W.G, and Taylor P.C. 2017. A chemical genomics approach to drug reprofiling in oncology: antipsychotic drug risperidone as a potential adenocarcinoma treatment. *Cancer Lett.* 393:16-21.

Exscientia Limited. 2013-2019. Oxford. Exscientia Driven by Knowledge. Available from <https://www.exscientia.co.uk/>. [Fecha de revisión 1 marzo 2019].

Fleming, N. 2018. Computer- calculated compounds; Researchers are deploying artificial intelligence to discover drugs. *Nature.* 557: 555-567.

Flórez, J. 1998. Capítulo 1: Farmacología: conceptos y objetivos. In *Farmacología humana*. Edited by J. Flórez, J.A. Armijo and Á. Mediavilla. 3ra edición. Editorial Masson S.A. Barcelona, España. pp. 1-4.

Friesner, R.A., Bank, J.L., Murphy, R.B., Halgren, T.A., Klicic, J.J., Mainz, D.T., Repasky, M.P., Knoll, E.H., Shelley, M., Perry, J.K., Shaw, D.E., Francis, P. and Shenkin, P.S. 2004. Glide: a new approach for rapid accurate docking and scoring I. Method and assessment of docking accuracy. *J Med Chem.* 47(7):1739-1749.

Irwin, J.J., Sterling, T., Mysinger, M.M., Bolstad, E.S. and Coleman, R.G. 2012. ZINC: A Free Tool to discover chemistry for biology. *J Chem Inf Model.* 52 (7):1757-1768.

Jain, A.N. 2003. Surflex: Fully automatic flexible molecular docking a molecular similarity-based search engine. *J Med Chem.* 46(4):499-511.

Jones, G., Willett, P., Glen, R.C., Leach, A.R. and Taylor, R. 1997. Development and validation of a Genetic algorithm for flexible docking. *J Mol Biol.* 267(3):727-248.

Lill, M. 2013. Chapter 1: Virtual Screening in Drug Design. In: *In silico Models for Drug Discovery and Methods in Molecular Biology*. Edited by S. Koratagere. Springer Science+Business Media. ISBN 978-1-62703-342-8.

March-Vila, E., Pinzi, L., Sturm, N., Tinivella, A., Engkvist, O., Chen, H., and Rastelli, G. 2017. On the integration of in silico drug design methods for drug repurposing. *Front Pharmacol.* 8:298.

Medina-Franco, J., Fernández-de Gortari, E. and Naveja, J. 2015. Avances en el diseño de fármacos asistidos por computadora. *Educación Química.* 26(3):180-186.

Morris, G.M., Goodsell, D.S., Halliday, R.S., Huey, R., Hart, W.E., Belew, R.K. and Olson A.J. 1998. Automated docking using a Lamarckian Genetic algorithm and empirical binding free energy function. *J Comput Chem.* 19(14):1639-1662.

Nordberg, G., Fowler, B. and Nordberg, M. 2014. *Handbook on the toxicology of Metals*. 4ª Edición. Academic Press. Pp 1542. eBook ISBN: 9780123973399

Padilla, A. and Rojo, A. 2002. Simulación del reconocimiento entre proteínas y moléculas orgánicas o docking aplicación al diseño de fármacos. *Mensaje Bioquímico.* 21: 129-145.

Plewczynski, D., Laźniewski, M., Augustyniak, R. and Ginalski, K. 2010. Can We Trust Docking results? Evaluation of Seven commonly used programs on PDBbind database. *J. Comput. Chem.* 32(4):742-55.

Popova, M., Isayev, O. and Tropsha, A. 2018. Deep reinforcement learning for de novo drug design. *Sci. Adv.* 4(7): eaap7885.

Rarey, M., Kramer, B., Lengauer, T. and Kleve, G. 1996. A fast-flexible docking method using an incremental construction algorithm. *J Mol Biol.* 261(3):470-489.

Saldívar-González, F., Prieto-Martínez, F. and Medina-Franco, J.L. 2016. Descubrimiento y desarrollo de fármacos: un enfoque computacional. *Educación Química.* 28:51-58.

Secretaría de Salud. 2002. *Salud: México 2002: Información para la rendición de cuentas*. Segunda edición. ISBN 970-721-148-2.

Trott, O. and Olson A.J. 2010. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading. *J. Comput. Chem.* 31: 455-461.

Venkatachalam, C.M., Jiang, X., Oldfield, T. and Waldman, M. 2003. LigandFit: a novel method for the shape-directed rapid docking of ligands to protein active sites. *J Mol Graph Model.* 4:289-307.

Zsoldos, Z., Reid, D., Simon, A., Sabjad, S.B. and Johnson, A.P. 2007. eHiTs: a new, exhaustive flexible ligand docking system. *J Mol Graph Model.* 26(1):198-2012.