

El descobriment de fàrmacs: un repte i una necessitat

Discurs de recepció d'Àngel Messeguer i Peypoch
com a membre numerari de la Secció de Ciències
i Tecnologia, llegit el dia 19 de març de 2012



Institut
d'Estudis
Catalans

SECCIÓ DE CIÈNCIES
I TECNOLOGIA

El descobriment de fàrmacs:
un repte i una necessitat

El descobriment de fàrmacs: un repte i una necessitat

Discurs de recepció d'Àngel Messeguer i Peypoch
com a membre numerari de la Secció de Ciències
i Tecnologia, llegit el dia 19 de març de 2012

Barcelona 2012



Institut
d'Estudis
Catalans

SECCIÓ DE CIÈNCIES
I TECNOLOGIA

Messeguer i Peypoch, Àngel, 1946-

El Descobriment de fàrmacs : un repte i una necessitat : discurs de recepció d'Àngel Messeguer i Peypoch com a membre numerari de la Secció de Ciències i Tecnologia, llegit el dia 19 de març de 2012

Bibliografia

ISBN 9788499651323

I. Institut d'Estudis Catalans. Secció de Ciències i Tecnologia II. Títol

1. Farmàcia — Investigació

615.001.5

© Àngel Messeguer i Peypoch

© 2012, Institut d'Estudis Catalans, per a aquesta edició

Carrer del Carme, 47. 08001 Barcelona

Primera edició: setembre del 2012

Tiratge: 200 exemplars

Text revisat lingüísticament per la Unitat de Correcció del Servei Editorial de l'IEC

Compost per Víctor Igual, SL

Imprès a Service Point FMI, SA

ISBN: 978-84-9965-132-3

Dipòsit Legal: B-23182-2012

Són rigorosament prohibides, sense l'autorització escrita dels titulars del *copyright*, la reproducció total o parcial d'aquesta obra per qualsevol procediment i suport, incloent-hi la reprografia i el tractament informàtic, la distribució d'exemplars mitjançant lloguer o préstec comercial, la inclusió total o parcial en bases de dades i la consulta a través de xarxa telemàtica o d'Internet. Les infraccions d'aquests drets estan sotmeses a les sancions establertes per les lleis.

PRÒLEG

Goso començar aquest discurs fent una referència familiar per mi imprescindible. I és que les primeres vegades que recordo haver sentit parlar de l'Institut d'Estudis Catalans es remunten a més de cinquanta anys enrere mentre la meva família vivia a Mèxic, exiliada. El meu avi, Ramon Peypoch i Pich, un dels fundadors de la Societat Catalana de Ciències Físiques, Químiques i Matemàtiques com a filial de l'IEC l'any 1932, esmentava l'Institut, com ell en deia, amb una respectuosa familiaritat. A més, amb certa freqüència el sentia parlar d'amics seus, la importància dels quals no vaig copsar fins molt més tard. El doctor Bosch Gimpera, el doctor Nicolau d'Olwer, amic íntim del meu avi, enterrat en un matí fred del dia de Nadal, fet que a nosaltres, nanos, ens va fer impacientar pel que trigava la festa familiar, o el doctor Ramon Aramon, que s'hostatjava a casa els meus avis quan visitava Mèxic en la cerca de suport econòmic per a l'IEC. A més d'aquests records hi hagué l'empremta que ell em deixà sobre la visió d'una Catalunya on anys més tard vaig venir a estudiar la carrera de químic, fer la tesi doctoral i quedar-m'hi. Quan, mort el dictador, l'IEC i les seves filials van poder reactivar la seva vida pública dins de la legalitat espanyola, vaig ser secretari de la nostra filial, i també recordo l'alegria que va tenir. Estic del tot convençut que ara hauria estat molt més content. Tanmateix, la meva incredulitat sobre la transcendència de la vida fa que no pugui aixecar el cap i creure que encara s'ho pot mirar, però això no treu que l'hagi tingut molt present a l'hora de preparar aquesta presentació.

INTRODUCCIÓ

Tan sols cal consultar qualsevulla base de dades sobre esperança i qualitat de vida per adonar-nos del salt que la salut humana ha experimentat durant el segle

passat. En general es viuen molts més anys i aquests anys tenen una qualitat que seria l'enveja dels nostres avantpassats. Aquesta realitat del que anomenem primer món també podria estendre's a altres realitats menys desenvolupades, si bé continuen desigualtats i situacions de misèria i fam que són la nostra vergonya, i que qüestionen les condicions de vida i les possibilitats de futur de milions d'habitants del planeta.

Són diverses les causes que expliquen la millora de la condició sanitària de la societat en el món occidental a partir, sobretot, del final de la Segona Guerra Mundial. La potabilització de l'aigua, la millora de la higiene, la generalització de l'atenció mèdica, les mesures de prevenció, en són unes quantes d'importantes. I en aquesta llista no pot faltar el desenvolupament dels fàrmacs a escala industrial.

La importància dels fàrmacs es va posar de manifest a finals del segle XIX. A Paul Ehrlich cal atribuir, quan encara era un estudiant a la Universitat d'Estrasburg (com han canviat les coses), l'observació que determinats colorants són capaços de fixar-se als teixits biològics. En altres paraules, que els teixits tenen receptors per a productes químics. D'aquí es podia deduir que si aquesta interacció era selectiva, per exemple, davant de certs microbis, paràsits o cèl·lules afectades per alguna anormalitat, la interacció producte - teixit biològic podria tenir valor curatiu, és a dir, terapèutic. És el naixement de la quimioteràpia. Ben aviat, productes naturals extrets de plantes, com ara la morfina o l'àcid salicílic, es van incorporar al ventall de composts amb aplicacions farmacèutiques.

Amb tot, ni la indústria de colorants, ni les farmàcies, ni els laboratoris universitaris podien ser capaços d'assumir el repte d'investigar i desenvolupar sistemàticament nous fàrmacs. Calia que naixés una nova indústria encarregada de fer-ho: la farmacèutica. Ja a la primera meitat del segle passat es va observar un desenvolupament molt important d'aquesta indústria. Posem com a exemple el cas dels antibiòtics. Després del descobriment de la penicil·lina per part d'Alexander Fleming el 1929, nou anys més tard es mostra com aquest compost és capaç d'eliminar els estafilococs i, per tant, de combatre de manera eficaç i amb baixa toxicitat infeccions bacterianes. Aquest pas endavant fonamenta la implantació de laboratoris de microbiologia i de bioquímica, entre altres especialitats, a les grans indústries farmacèutiques mundials, els quals complementaran els de química mèdica, farmacologia i toxicologia ja implantats.

LA INVESTIGACIÓ MODERNA EN EL DESCOBRIMENT DE FÀRMACS

Fins aquí, i de manera general, es podria dir que la cerca de productes amb utilitat per alleugerir els símptomes o bé curar malalties tenia un començament moltes vegades basat en els descobriments accidentals, no previstos (serendipitat). Llavors, des de la química mèdica es treballava per millorar les propietats

d'aquests productes sense una sistemàtica establerta, guiats sobretot per l'enginy i l'experiència. És fàcil admetre que professionals d'altres especialitats (farmacòlegs, biòlegs, toxicòlegs, etc.) adoptessin metodologies semblants i que, amb el pas dels anys i dels resultats més aviat pobres d'aquestes estratègies, es plantegeassin aplegar esforços i treballar més en comú, tot reconeixent les contribucions d'uns i altres.

Aquest camí de col·laboració no ha estat fàcil. Un exemple n'és el diàleg entre químics i biòlegs, indispensable per tirar endavant la recerca de nous fàrmacs, particularment després de l'entrada en escena de la biologia molecular i la biologia estructural i del desenvolupament espectacular que han assolit. Primer, amb la possibilitat de produir proteïnes a partir del clonatge i expressió dels gens que les codifiquen. A més, pensem que fins als anys noranta la teràpia basada en el medicament tenia al davant unes cinc-centes dianes farmacèutiques (receptors, enzims, bacteris, etc.). No obstant això, l'elucidació dels genomes de diferents espècies, entre aquestes la dels humans, ha comportat una revolució a l'hora d'identificar noves dianes farmacèutiques. La genòmica (el coneixement sobre el món dels gens), la proteòmica (el coneixement sobre el món de la proteïna des del punt de vista estructural i funcional) i la bioinformàtica (la metodologia per ordenar i donar coherència a la immensa quantitat de dades derivades dels estudis genòmics i proteòmics) s'han conjuntat per ampliar de manera poc imaginable anys enrere el repertori de proteïnes i altres biomolècules que fan un paper important en l'emergència i desenvolupament d'estats patològics i de malalties. Actualment s'accepta que el nombre de dianes farmacèutiques ha pujat entre cinc mil i deu mil.

EL DESCOBRIMENT DE FÀRMACS I LES GRANS XIFRES

Aquest increment del nombre de possibles dianes d'interès terapèutic no ha estat l'únic capítol en què el procés de descobriment de fàrmacs s'ha vist envaït i en certa manera aclaparat per les grans xifres. La posada a punt d'assaigs biològics *in vitro*, miniaturitzats i robotitzats, fa possible en molts casos assajar l'activitat de centenars de composts químics en poques hores. La indústria farmacèutica aplica aquesta manera de treballar, tot deixant de banda per a estadis més avançats, és a dir, quan ja s'han seleccionat els productes anomenats «caps de sèrie» (*lead compounds*), la investigació amb models animals. Raons econòmiques, bàsicament reducció de costos i de temps, a més de les derivades de consideracions bioètiques, han justificat aquesta tendència.

La feina dels químics no ha pogut romandre indiferent davant d'aquests canvis. Si era possible assajar una gran quantitat de composts, també ho havia de ser dissenyar-los, preparar-los i caracteritzar-los. Així doncs, químics computacio-

nals, químics mèdics i químics analítics s'han trobat igualment amb les grans xifres. Des del camp computacional, de manera complementària al disseny racional i a l'estudi de les relacions estructura-activitat, l'evolució espectacular de la capacitat de càlcul i emmagatzematge de dades *in silico* ha facilitat el desenvolupament d'eines de disseny i cribratge de molècules bioactives davant de dianes farmacèutiques. Des de la química analítica, són rellevants les contribucions per estudiar la puresa i l'estructura de les molècules sintetitzades fent servir aparells que poden gestionar moltes mostres i fer-ho de manera ràpida i precisa per obtenir la informació de puresa de mostra o estructural desitjada. Per exemple, la cromatografia líquida acoblada a l'espectrometria de masses ha esdevingut una eina indispensable en les primeres etapes del descobriment de fàrmacs i també en etapes posteriors, com ara la preclínica, per estudiar en detall les transformacions que experimenta un candidat a fàrmac en l'organisme a causa del seu metabolisme. Informacions relacionades amb el temps que el compost està en l'organisme, els productes que genera en metabolitzar-se, com s'arriba a eliminar, les conseqüències de possibles efectes tòxics de tot aquest procés, etc. són bastides a partir de les dades que l'anàlisi química pot proporcionar. Pel que fa a la química mèdica, com es veurà més avall, a l'adaptació de la metodologia de síntesi orgànica convencional en fase homogènia (generalment en dissolució) a la síntesi sobre suport polimèric, el desenvolupament de nous mètodes de síntesi per resoldre la preparació de composts estereoquímicament purs o bé per escalar la d'un candidat a fàrmac de manera que els costos econòmics i mediamambientals siguin assumibles —amb la incorporació de nous catalitzadors orgànics, inorgànics i enzimàtics—, s'hi ha hagut de sumar el desenvolupament de procediments per construir, no ja desenes de molècules simultàniament, sinó centenars o milers, que puguin alimentar l'enorme capacitat de cribratge disponible actualment. L'emergència de la química combinatòria ha volgut cobrir aquesta necessitat.

La carrera d'obstacles que constitueix avui el recorregut des que sorgeix una idea per atacar una determinada malaltia en un grup d'investigació d'un laboratori fins que el fàrmac pugui estar a disposició del malalt pot allargar-se fins als deu o quinze anys, amb inversions de l'ordre dels sis-cents als mil milions d'euros. L'elevat grau d'exigència en termes d'eficàcia terapèutica i de seguretat exercit per les agències governamentals a l'hora d'autoritzar un nou fàrmac justifica en bona part aquest període de temps i els diners que fan falta per superar les fases preclínica i clíniques indispensables per obtenir aquella autorització.

Cal recordar aquí que la possibilitat de protegir per patent un fàrmac pot allargar-se, com a màxim, entre vint i vint-i-cinc anys, de manera que els propietaris de l'exclusiva es poden passar més de la meitat d'aquest període sense poder-lo produir. Aquestes xifres condicionen, al marge de consideracions sociopolíti-

ques i inclús ètiques, que principalment grans multinacionals de la indústria farmacèutica siguin les capaces d'afrontar el repte de posar un fàrmac al mercat. Dissortadament, aquest repte sovint està condicionat perquè aquest fàrmac els pugui fer el retorn econòmic suficient per embrancar-se en noves aventures d'investigació i desenvolupament, és a dir, que sigui ben rendible el màxim nombre d'anys.

Aquest escenari té una sèrie de conseqüències importants, com ara que l'interès prioritari de bona part de les multinacionals estigui centrat en el tractament crònic de patologies que afecten principalment el món desenvolupat, mentre que d'altres que arriben a delmar països pobres de recursos no desperten l'atenció que caldria. El problema és real i complex, i no hi caben discursos simplistes, sinó que les solucions —que és necessari que n'hi hagi— hauran de venir de la participació de totes les parts implicades a escala mundial.

Una altra de les conseqüències de les xifres esmentades és la necessitat de reduir costos i temps de desenvolupament, no només pensant en la possible rendibilitat industrial, sinó en el malalt. Cal reconèixer que, a desgrat dels avenços produïts, encara trobem una llarga col·lecció de malalties que no tenen cura o bé que la que hi ha disponible mira de controlar o reduir-ne símptomes com el dolor o la progressió; les malalties d'Alzheimer o Parkinson, determinats càncers o altres processos autoimmunes o degeneratius, en són exemples. A tot això cal afegir el cas d'altres patologies, com ara les infeccions, en què la resistència que han anat desenvolupat els organismes patògens als antibiòtics més potents fa trontollar seriosament el control que s'havia assolit sobre la seva extensió i efectes. Finalment, la nostra societat demana i fins i tot exigeix qualitat de vida, i aquesta qualitat passa per amortir o evitar el dolor, el sofriment o inclús les molèsties derivades d'una malaltia concreta.

NOUS REPTES DEL DESCOBRIMENT DE FÀRMACS

Davant d'aquesta situació, la percepció que va dominar anys enrere en el sentit que la indústria farmacèutica era capaç per ella mateixa de portar a terme totes les investigacions inicials i el desenvolupament posterior de fàrmacs, ha experimentat canvis importants. Totes aquelles inversions i fusions empresarials no han comportat un augment del nombre d'especialitats farmacèutiques noves al mercat (vegeu la figura 1). Una de les raons principals d'aquesta evolució és la qüestió de la seguretat dels medicaments, ja que cal demostrar amb molts assaigs i dades que el nou fàrmac no té riscos per a la salut. Amb els controls que es fan actualment, l'aspirina, per exemple, no hauria estat autoritzada a causa dels problemes gàstrics que pot ocasionar.

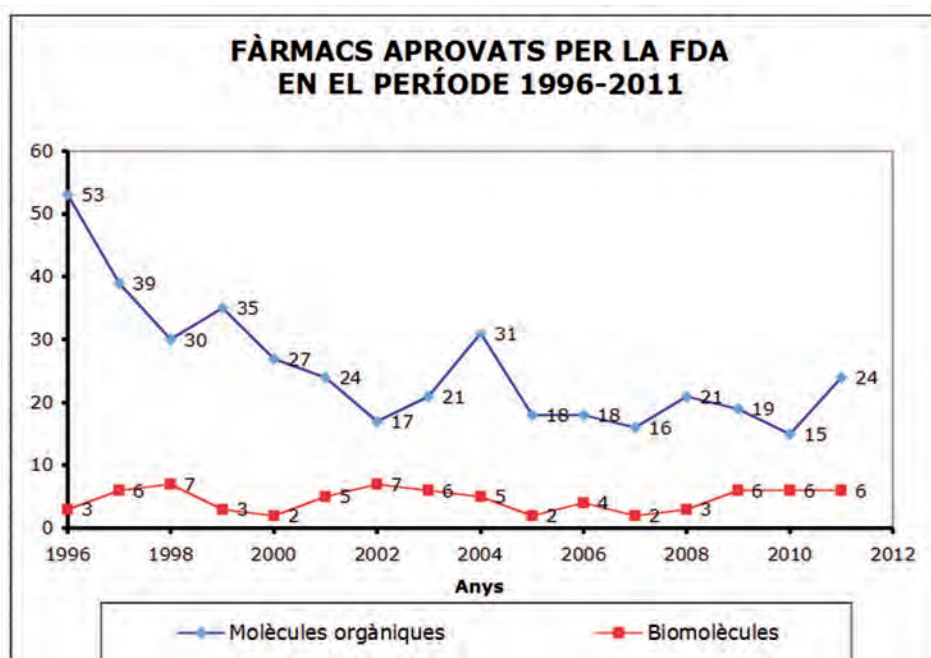


FIGURA 1. Noves molècules orgàniques petites i biomolècules aprovades per la FDA (Federal Drug Administration) com a fàrmacs en el període 1996-2011.

En aquest discurs ens centrarem en l'àmbit de les molècules orgàniques, sense aprofundir en els anomenats fàrmacs biològics. Pel que fa a les molècules orgàniques, el químic hi té un paper fonamental. Si ens centrem en el químic mèdic, per exemple, és a través d'ell, treballant al sector acadèmic o a l'industrial, que no tan sols sorgiran les molècules actives inicials, sinó que es modularan des de molts punts de vista (activitat davant la diana, solubilitat, biodisponibilitat, penetrabilitat cel·lular, resistència al metabolisme, etc.), per arribar a seleccionar els caps de sèrie que entraran, amb les màximes garanties possibles, a les fases preclíniques avançades. Com mostra la figura 2, a partir de les dades estructurals i funcionals que es coneguin d'una diana farmacèutica (enzim, receptor, proteïna, etc.), es pot elaborar una col·lecció de molècules a l'ordinador (quimioteca virtual) que tinguin possibilitat d'interactuar amb la diana. Atès que el nombre de molècules pot arribar als milers o als milions, cal fer una filtració abans de preparar-les al laboratori (quimioteca focalitzada). Per fer-ho, s'empren criteris de conformitat farmacodinàmica (interacció de la molècula amb la diana), farmacocinètica (disponibilitat de la molècula per arribar a la diana, metabolisme, toxicitat) i farmacèutica (cost, patentabilitat, etc.). L'assaig de la quimioteca focalitzada permetrà identificar mo-

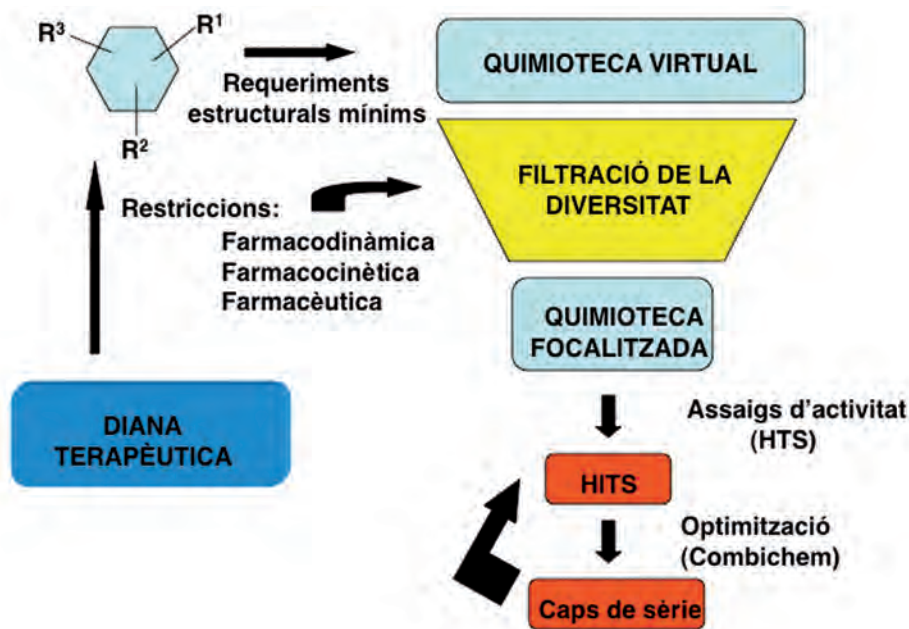


FIGURA 2. Metodologia per al disseny i la construcció de quimioteques dirigides a una diana farmacèutica específica, així com a l'optimització estructural dels composts *hit* identificats després del cribratge corresponent.

lècules actives (*hits*), les quals hauran de sotmetre's a un procés d'optimització estructural per acabar identificant els candidats a caps de sèrie (1-3 composts) que passarien a fases preclíniques més avançades (figura 3). Com es veurà més avall en tractar el tema de la química combinatòria, quan no hi ha cap informació estructural sobre una diana farmacèutica, és possible seguir un esquema similar però partint de quimioteques no focalitzades.

D'altra part, el químic preparatiu no s'atura amb la síntesi de molècules que puguin arribar a ser fàrmacs. Una molècula pot ser molt activa davant una diana concreta, però si no és biodisponible, és a dir, si no pot arribar al punt de l'organisme on cal que actuï, serà poc eficaç. L'administració de fàrmacs ha hagut d'experimentar un desenvolupament important per mirar de solucionar aquest problema. En aquest desenvolupament, en què hi ha implicat l'ús de substàncies polimèriques d'origen natural o sintètic, així com altres productes (per exemple, els liposomes), hi ha molt terreny per explorar i la química hi té un paper fonamental. Aquest és un camp que s'ha expandit de manera espectacular amb l'entrada de les nanotecnologies. El desenvolupament de nanomedicines, l'aplicació de nanocompostos al

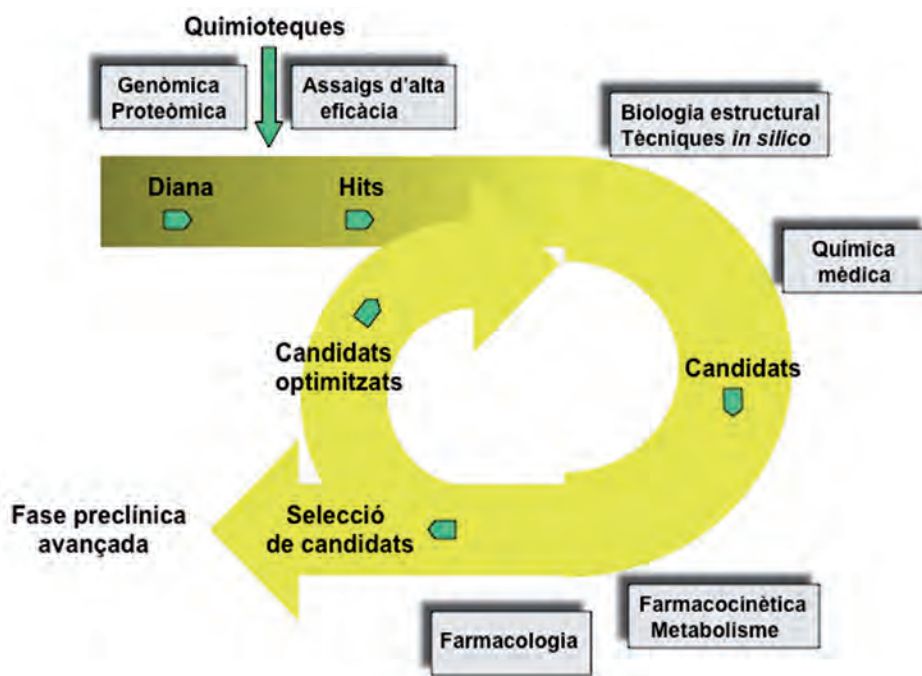


FIGURA 3. Visió esquemàtica de la fase preclínica en el desenvolupament de fàrmacs. S'hi indica la fase d'entrada de la química combinatòria.

diagnòstic o a l'administració de fàrmacs són camps en què les inversions s'han multiplicat els últims anys i dels quals s'esperen resultats relativament aviat. La combinació d'aquestes tecnologies amb les molècules orgàniques o inclús amb els fàrmacs biològics (per exemple, els anticossos) potenciarà sens dubte l'arsenal amb el qual combatre les malalties que mostren més resistència actualment.

QUÍMICA COMBINATÒRIA

La química combinatòria neix a finals dels anys vuitanta i es desenvolupa ràpidament. És una tecnologia que persegueix la preparació de col·leccions de molècules, anomenades quimioteques, de manera ràpida i simultània. Com es mostra a la figura 4a, mitjançant cadenes de reacció fetes a l'entorn d'un esquelet inicial, es va explorant l'espai de diversitat química de manera més o menys exhaustiva, depenent de les necessitats, fins a completar el conjunt de la quimioteca. Des del punt de vista del format (vegeu la figura 4b), poden construir-se quimioteques de composts discrets o bé de mesclades controlades. En el primer cas, a cada

contenidor final hi ha un producte i aquest és el format preferit per la indústria farmacèutica, atès que es pot certificar directament l'estructura d'un compost que ha donat actiu en l'assaig biològic. També és un format d'elecció quan es té un coneixement estructural important de la diana farmacèutica; en aquestes condicions, és factible fer un disseny molt més acurat de les molècules que cal preparar, cosa que en redueix el nombre i en condiona la diversitat química. És el cas de les quimiotèques focalitzades.

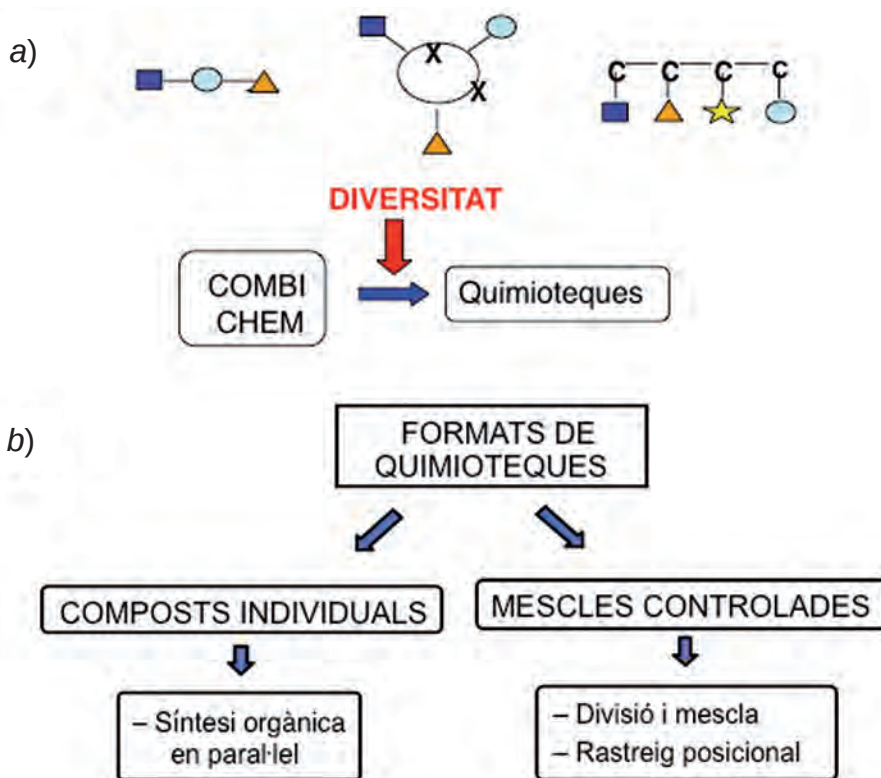


FIGURA 4. a) El concepte de química combinatòria; b) els diferents formats de les quimiotèques combinatòries.

Quant a les quimiotèques de mescles controlades, a cada contenidor hi ha una mescla de composts. Sigui en un o altre format dels mostrats a la figura 4b, la construcció de la quimioteca s'ha fet de manera racional i ordenada, de manera que, en assajar les diferents mescles, dels resultats observats es poden deduir els

composts individuals responsables de l'activitat. L'explicació detallada d'aquests formats va més enllà dels objectius d'aquest treball i es remet el lector interessat a la bibliografia citada al final.

En aquest context, també es remet el lector a la important contribució que ha fet el grup de Stuart L. Schreiber, de la Universitat de Harvard, a la descoberta de composts constituents de quimiotèques de mescles (aquí treballant en format de divisió i mescla) que, en causar una resposta fenotípica determinada, han permès identificar la funció de dianes noves. Schreiber anomenà *genètica química* aquesta estratègia, com a complement al recurs ben conegut de la genètica d'eliminar l'activitat d'un gen determinat i estudiar els efectes que causa aquesta supressió. L'avantatge de fer-ho per la via química, quan és possible, és que l'acció inhibidora pot revertir a aturar el tractament amb el compost actiu. I el que és més interessant, el compost identificat pot ser el primer esglau per al desenvolupament d'un fàrmac selectiu per a la diana en qüestió.

En el nostre cas, com es veurà més endavant, ha estat el rastreig posicional el format que hem adoptat en les nostres quimiotèques de mescles. Cal esmentar que les quimiotèques de mescles controlades han estat, una vegada passat l'entusiasme inicial, molt criticades. Per una part, sorprèn aquesta posició si es té present que la indústria farmacèutica ha fet servir mescles des del començament de la seva història per descobrir molècules candidates a fàrmac. Les plantes o els organismes marins, per posar dos exemples, han estat i són una font molt important de productes amb activitat biològica que han arribat a fàrmacs, tot i ser conscient que una planta o un tunicat marí és una quimioteca de mescles de la qual es desconeix el nombre de productes i la seva concentració. Per contra, en una quimioteca de mescles controlades construïda al laboratori, aquestes dues característiques són, teòricament, conegudes.

No obstant això, on la crítica sí que ha estat fonamentada ha estat en la qualitat de les quimiotèques posades a l'abast del sector farmacèutic, sobretot a finals dels anys noranta i començaments d'aquest segle. Les presses, la falta del coneixement necessari i la idea que com més gran era una col·lecció, molt millor, comportà en molts casos la construcció de quimiotèques de mescles en què ni el nombre, ni la concentració dels composts era fiable. Aquesta situació s'ha corregit amb els anys, però la reticència del sector industrial encara persisteix. En el nostre cas, treballar amb quimiotèques de mescles ens ha estat positiu, atès que ha fet possible l'establiment de col·laboracions amb grups de l'àmbit públic o privat interessats a identificar composts que fossin actius davant d'una diana específica, ja que la diversitat química continguda en aquestes quimiotèques podia ser explorada fent un nombre d'assaigs biològics relativament petit.

La preparació de quimiotèques de mescles s'ha vist molt afavorida amb l'ús de la síntesi en fase sòlida, és a dir, fent servir matrius polimèriques on es puguin

inserir les molècules a mesura que es van construint. També des del punt de vista pràctic, la construcció d'aquestes quimiotèques es veu facilitada si s'empren reaccions senzilles o bé es persegueix la formació d'oligòmers. En el nostre cas, els peptoides s'adeien perfectament amb aquestes dues característiques i aquesta fou l'esclatxa a través de la qual el nostre grup entrà en la química combinatòria.

ELS PEPTOIDES COM A PEPTIDOMIMÈTICS D'INTERÈS FARMACÈUTIC

Un peptoid és un oligòmer d'*N*-alquilglicina. Tal com mostra la figura 5, formalment és com si la diversitat química que en un pèptid radica en el substituent del carboni en posició alfa de cada aminoàcid, en el cas del peptoid es traslladés a l'àtom de nitrogen. D'aquesta manera els peptoides, comparats amb els pèptids, ofereixen alguns avantatges, com ara la més gran resistència a l'acció de les proteases, l'absència d'interaccions de ponts d'hidrogen en la cadena, l'elevada llibertat conformational i, des d'un punt de vista preparatiu, la possibilitat d'exploració d'un espai de diversitat molt ampli per als substituents de l'àtom de nitrogen.

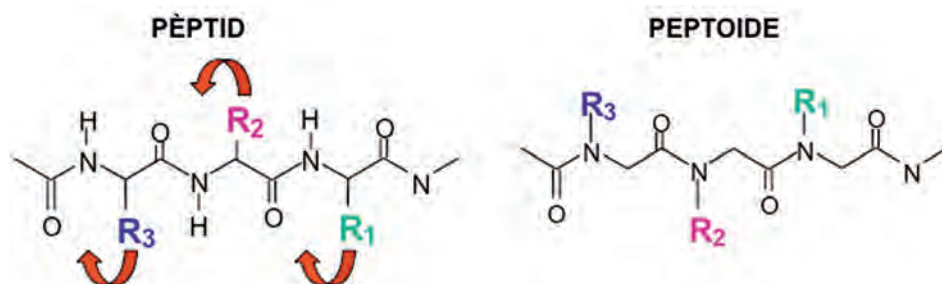


FIGURA 5. Estructures d'un pèptid i d'un peptoid, en què s'assenyala la diferència entre ells des d'un punt de vista formal.

Al llarg d'aquests anys el nostre grup ha dissenyat i construït quatre quimiotèques de mescles controlades de peptoides: tres de trímers i una de pentàmers. L'última d'aquestes colleccions conté més d'11.500 composts en 68 mescles controlades i en la seva construcció s'han fet servir tècniques *in silico* per escollir la diversitat química més adient amb els nostres objectius. A més, s'ha fet un estudi acurat de les reaccions implicades i de la reactivitat de cada font de diversitat per tal d'assolir que s'haguessin format tots els productes previstos i en concentracions semblants. Finalment, s'ha validat la bondat de la quimioteca a través de l'anàlisi per espectrometria de masses dels components de les diferents mescles i de la identificació de productes actius davant de dianes seleccionades.

Atès que aquestes quimioteques no es van dissenyar per a una diana en concret, sinó que estan basades en introducció de diversitat química a l'esquelet del peptòide, al llarg d'aquests anys s'han establert col·laboracions amb grups del sector públic i també del privat que treballen en problemes molt diversos. La figura 6 mostra àrees farmacèutiques en què s'han identificat composts actius. En la major part dels casos, bé no es disposava de massa coneixement de la diana o inclús no se sabia els efectes que un antagonista o inhibidor d'aquesta diana podien produir.

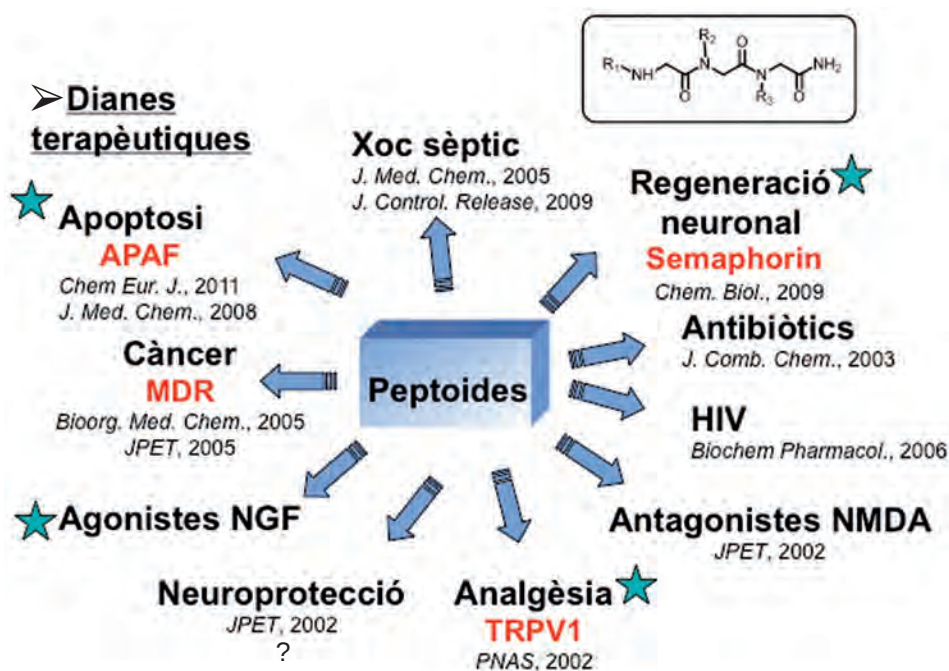


FIGURA 6. Exemples en què les quimioteques de peptòides han permès la identificació de composts actius davant dianes d'interès farmacèutic. Els asteriscs marquen els casos que es comenten en aquest treball.

A tall d'exemples d'aquests resultats, la figura 7 mostra tres casos que mereixen alguns comentaris. En el primer, una col·laboració amb el grup del doctor Pablo Villoslada, actualment a l'Hospital Clínic de Barcelona, va permetre identificar una sèrie de peptòides actius com a antagonistes de dianes potencialment implicades en el control de malalties autoimmunes, com ara l'esclerosi múltiple (figura 7a). Aquest descobriment es va llicenciar a una empresa per conduir la

fase de desenvolupament preclínic. La figura 7b mostra un dels peptoides identificats en el grup d'Eduardo Soriano (Universitat de Barcelona), com a inhibidors de la semaforina 3A, una proteïna implicada, entre altres funcions, en la regeneració axonal. Tots dos casos són exemples de tipus de molècules no descrits anteriorment i que s'identificaren del cribratge d'una de les nostres quimioteques. En aquest segon cas, el peptoid més potent, anomenat SICH1, ha trobat una aplicació addicional com a eina farmacològica per a altres estudis relacionats amb la modulació de la semaforina 3A.

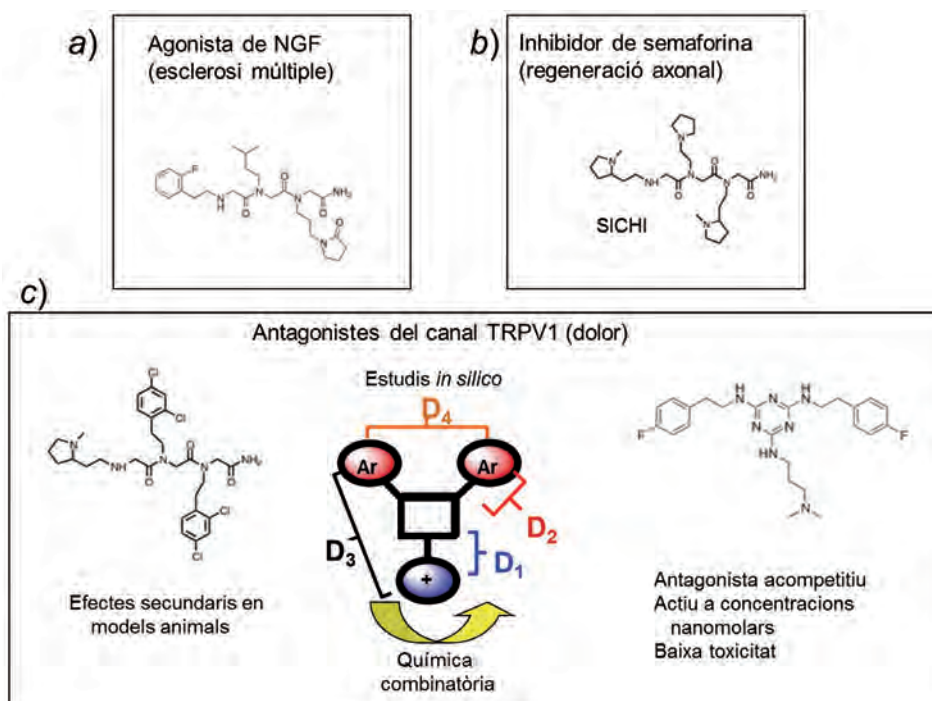


FIGURA 7. Peptoides actius identificats del cribratge de quimioteques de mesclades controlades. a) Un agonista de dianes implicades en malalties autoimmunes; b) un antagonista de la semaforina-3A, proteïna implicada, entre altres funcions, en la regeneració axonal; c) un antagonista del receptor TRPV1 implicat en dolor i analgèsia i la seva evolució a peptidomimètic amb propietats optimitzades.

L'exemple de la figura 7c il·lustra una altra possible aplicació del cribratge de quimioteques d'aquests oligòmers. El peptoid que es mostra fou un dels identificats en la col·laboració establerta amb el grup d'Antonio Ferrer-Montiel (Universitat Miguel Hernández), com a antagonistes del receptor TRPV1 amb efectes

in vitro i *in vivo*. Foren precisament aquests darrers resultats els que per primera vegada relacionaren aquell receptor amb el dolor i l'analgèsia. Tot i que ni per part nostra, ni de molts altres grups s'ha pogut portar fins ara un antagonista de TRPV1 a la pràctica clínica com a analgèsic a causa principalment de la falta de selectivitat davant d'altres canals iònics, recentment i a través de la combinació d'estudis *in silico* de modelització molecular i de disseny i construcció de quimiotèques més focalitzades, s'ha identificat un compost heterocíclic que actua com a antagonista acompetitiu del receptor a concentracions nanomolars i que presenta una toxicitat tolerable (figura 7c). Que sigui un antagonista acompetitiu és interessant perquè significa que actua amb preferència en canals TRPV1 que funcionen de manera patològica, fet que pot trobar aplicació en casos de dolor intens o bé crònic.

Un últim exemple que pretén il·lustrar els avantatges d'emprar quimiotèques per a la identificació de composts actius davant de dianes farmacèutiques noves s'emmarca en la col·laboració establerta amb el grup d'Enrique Pérez-Payá (Consell Superior d'Investigacions Científiques, València). La diana escollida es troba relacionada amb l'apoptosi (mort cel·lular programada), un procés complex i molt regulat que ha desvetllat un gran interès en els camps de la biologia i la medicina. El fet que davant d'una varietat d'estímuls, essencialment adreçats a preservar la vida de l'organisme, les cèl·lules programin la seva pròpia mort, ha conduït igualment a plantejar-se preguntes que van més enllà de la fenomenologia implicada en el procés apoptòtic per entrar en terrenys més generals de la biologia (consulteu la bibliografia recomanada).

Des del punt de vista d'estratègia terapèutica, pot haver-hi patologies en les quals convé restituir o induir la mort programada cel·lular, com és el cas del càncer, en què sovint els mecanismes naturals d'apoptosi han estat desactivats en les cèl·lules canceroses. Per contra, pot haver-hi altres malalties en què cal aturar processos apoptòtics de poblacions cel·lulars valuoses i amb pobre recanvi. Són casos com les malalties degeneratives del tipus Parkinson o Alzheimer, en què la pèrdua de neurones avança amb la progressió de la patologia. Aquí o també en la conservació d'òrgans per a transplantaments, la inhibició selectiva de l'apoptosi de les cèl·lules en risc pot comportar un evident benefici terapèutic.

El procés apoptòtic es troba molt regulat a escala cel·lular. Del mecanisme anomenat intrínsec, la figura 8 en mostra les etapes més rellevants, a partir de la sortida del senyal des de la mitocondria. Com s'il·lustra, en aquesta cascada, abans de l'entrada dels efectors del fenomen apoptòtic, els enzims anomenats caspases, hi ha la formació d'un complex multiproteic, anomenat apoptosoma, constituït per: citocrom C, dATP, procaspasa 9 i Apaf-1. Una vegada format el complex, la procaspasa 9 s'activa i genera, per efecte de la proteasa Apaf-1, la caspasa 9, la primera de la cascada que conduirà a la mort cel·lular. Conegut aquest mecanisme,

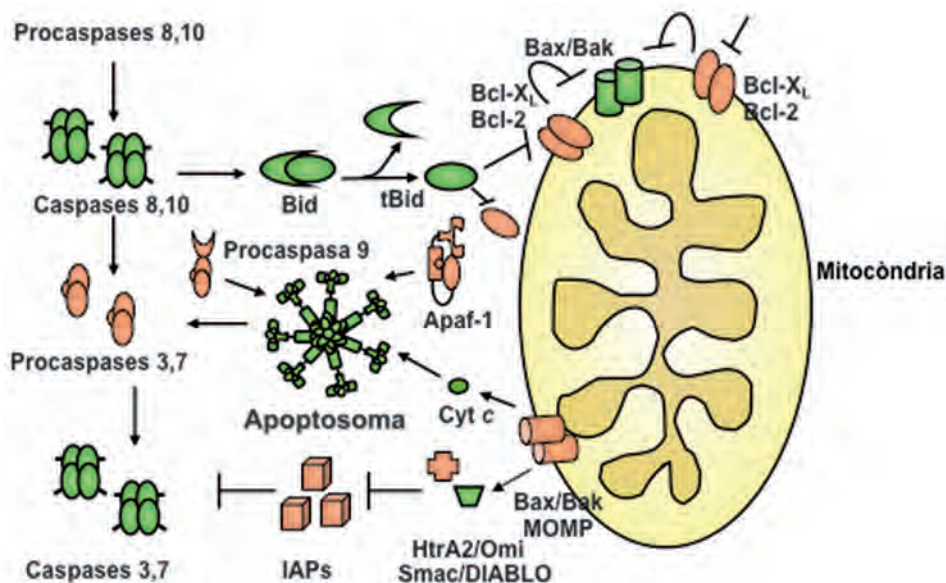


FIGURA 8. Representació esquemàtica del mecanisme intrínsec de la cascada apoptòtica on es mostra el paper clau de la proteïna Apaf-1 (centre de la figura) per a la formació del complex multiproteic anomenat apoptosoma, el qual activa la cascada de les caspases, els enzims efectors de l'apoptosi (cortesia d'Enrique Pérez-Payá).

les caspases foren les primeres dianes terapèutiques per mirar d'inhibir l'apoptosi; malauradament, a desgrat dels esforços esmerçats, cap inhibidor d'aquest tipus ha arribat fins ara al malalt.

En el nostre cas, s'escollí com a diana Apaf-1 amb el propòsit de buscar molècules petites que hi interaccionessin i, per tant, evitessin la formació de l'apoptosoma. Quan encara poca gent hi creia, la col·laboració establerta entre el grup de Pérez-Payá i el nostre apostà per la modulació d'interaccions proteïna-proteïna a través de composts orgànics de baix pes molecular potencialment presents en les nostres quimioteques de peptoides. La figura 9 mostra un esquema de l'assaig biològic posat a punt pel grup de Pérez-Payá amb la finalitat d'identificar inhibidors de la formació de l'apoptosoma.

El cribratge de les quimioteques de peptoides conduí a la identificació d'un compost amb resposta positiva com a inhibidor. Ja durant la primera sèrie d'assaigs s'obtingueren evidències indirectes que aquesta activitat inhibidora era deguda a una interacció amb la diana perseguida, la proteïna Apaf-1. Ara bé, la potència del compost i alguns trets estructurals, com ara la seva pobra solubilitat, comportaren el disseny d'una segona generació d'inhibidors. I és que, com mos-

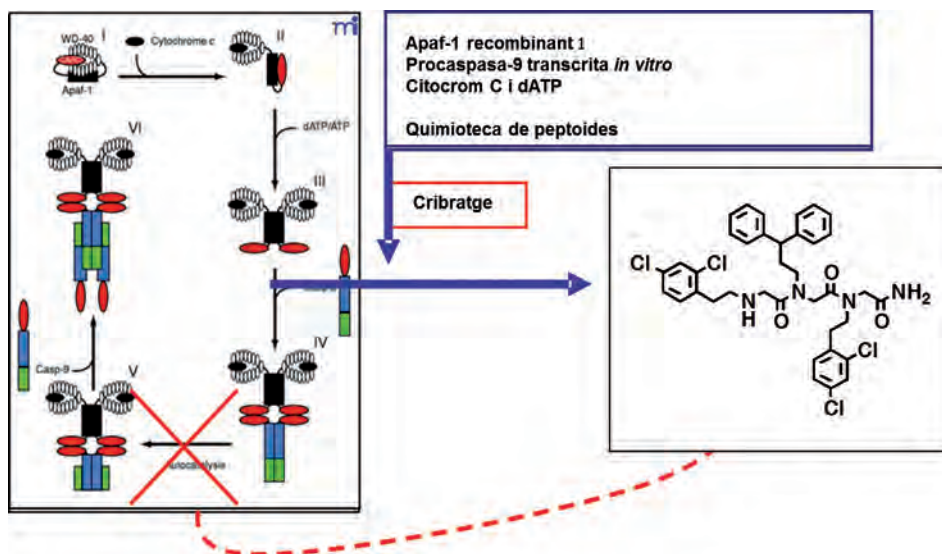


FIGURA 9. Esquema de l'assaig *in vitro* per identificar inhibidors de la proteïna Apaf-1 i, consegüentment, de l'apoptosi. Estructura del peptòide actiu identificat en aquest assaig.

tra la figura 10, si bé els peptoides tenen una elevada mobilitat conformacional que fa possible l'adopció de diverses conformacions en un mateix compost, i així augmenta la probabilitat d'interaccionar amb dianes terapèutiques (tot simplificant, diríem que un peptòide és una mena de quimioteca dinàmica), aquesta mateixa mobilitat pot conduir a interaccions amb altres dianes i, per tant, a l'aparició d'efectes secundaris no desitjats.

En conseqüència, es pot dir que un peptòide és un bon *hit*, però difícilment serà un bon candidat a fàrmac. Ara bé, al mateix temps un peptòide és una molècula que, a causa de la seva estructura lineal, ofereix unes àmplies possibilitats de manipulació química; és a dir, ens trobem en un cas oposat al de molts productes naturals bioactius, els quals presenten estructures policíclics, amb centres estereogènics o funcionalitats químiques delicades, que fan molt complicat un procés d'optimització. En els peptoides, un procés d'aquest tipus és conceptualment senzill; per exemple, es poden imaginar processos de formacions d'anells heterocíclics com els que mostra la figura 11. Mitjançant una modificació d'aquesta mena, es generen derivats amb conformació més restringida que si són actius, hi haurà una probabilitat més gran que ho siguin més que el *hit* inicial i que l'activitat sigui igualment més selectiva per a la diana en qüestió. En el nostre cas, les modificacions formals indicades conduïren a una segona generació d'inhibidors més po-

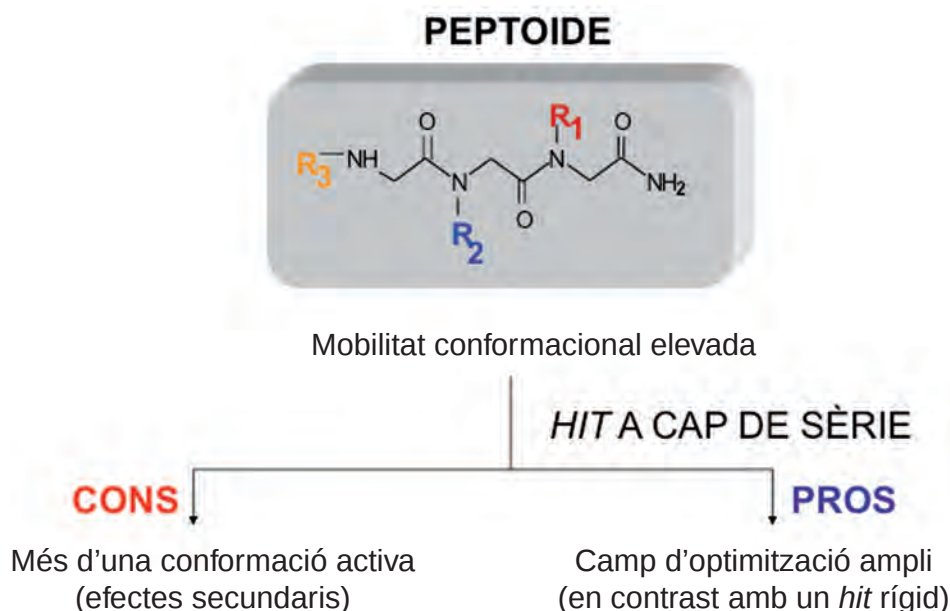


FIGURA 10. Avantatges i problemes que presenten els peptoides com a candidats a fàrmac.

tents *in vitro* i *in vivo*. A més, tota una sèrie d'assaigs fets al laboratori de Pérez-Payá permeteren comprovar que Apaf-1 era efectivament la diana dels nostres composts i que l'activitat moduladora sobre les interaccions proteïna-proteïna que comportaven la formació de l'apoptosoma era selectiva. Així doncs, la modulació química sobre el *hit* peptoides inicial havia donat fruits prou esperançadors per suscitar l'interès del món industrial farmacèutic. Aquestes molècules de segona generació obriren el camí a un programa de codesenvolupament adreçat a identificar composts amb aplicació per a la conservació d'òrgans per a trasplantaments, el qual encara continua.

Amb tot, aquests resultats no han aturat els nostres esforços per aconseguir inhibidors de l'apoptosi més perfeccionats. El fet d'acceptar amb molt grat que molècules dissenyades, sintetitzades i assajades als nostres laboratoris siguin font d'inspiració per a programes de desenvolupament farmacèutic, comporta també l'acceptació que de mica en mica vagis perdent la paternitat dels nous anàlegs que van emergint, en favor de l'empresa que es fa càrrec del risc considerable del desenvolupament cap al fàrmac final. És prou important que els equips d'investigació de centres públics dedicats al descobriment de fàrmacs entenguin que la seva missió té un final marcat per les limitacions econòmiques que tot desenvolupament

Peptidomimètics conformationalment més restringits:
segona generació d'inhibidors

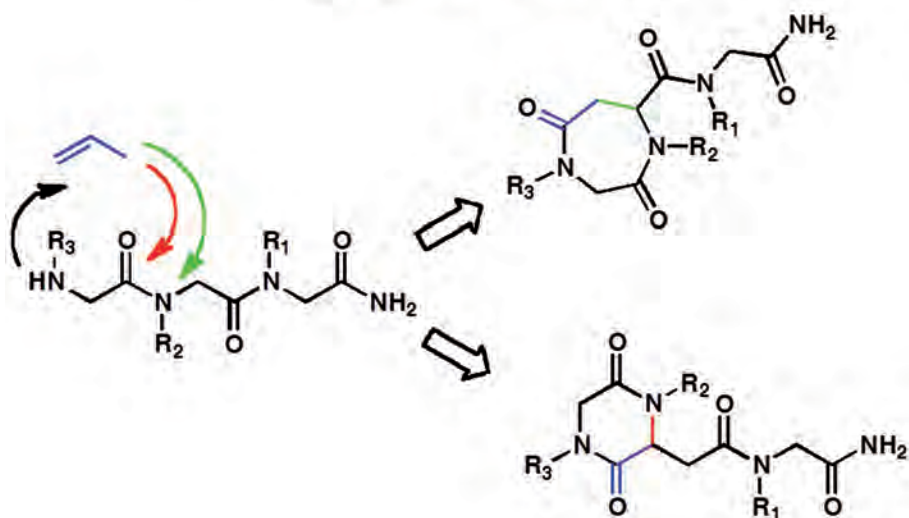


FIGURA 11. Representació formal de maneres de convertir un peptòide en un peptidomimètic de perfil farmacèutic més acceptable a través de la restricció de la mobilitat conformational, aplicada al cas de l'inhibidor de l'apoptosi.

farmacèutic comporta. Aquesta actitud no va necessàriament lligada a abandonar la línia investigadora, sinó que sempre hi haurà nínxols importants que no seran explorats quan es persegueix un resultat més pràctic i en què des d'aproximacions més bàsiques poden estudiar-se amb profunditat.

Tot i que els inhibidors de segona generació mostrats a la figura 11 tenien la mobilitat conformational bastant restringida, no la hi tenien del tot. En efecte, és coneguda la propietat dels enllaços amida acíclica com els que presenten les dues famílies heterocícliques per establir un equilibri amb les disposicions *cis* i *trans* que s'illustren a la part superior de la figura 12 per al cas de la família d'anells de sis baules. Aquesta observació conduí a un estudi complet de les característiques d'aquesta molècula, de les estabilitats relatives de les dues configuracions esmentades (per a més detalls, vegeu A. Moure *et al.*, 2011), i finalment al disseny d'una tercera generació d'inhibidors en què les configuracions *cis* i *trans* es trobessin congelades i sense possibilitat de bescanvi entre elles. Els composts triazòlics mostrats a la part inferior de la figura 12 són el primer exemple d'aquesta estratègia. Un primer fruit que ha permès constatar que són inhibidors de l'apoptosi amb potències comparables als inhibidors de segona generació, però que demanen en-

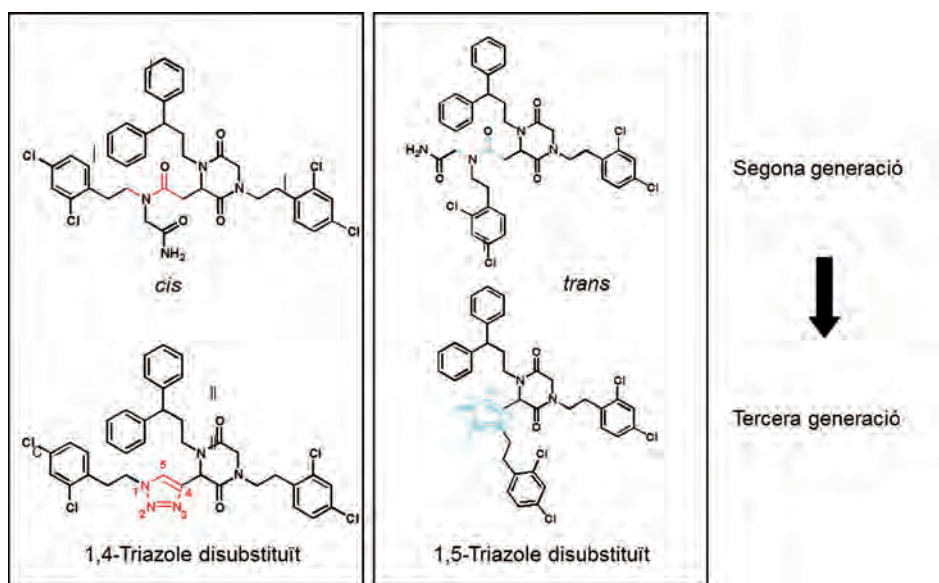


FIGURA 12. La modulació química de peptoides: disseny de dues generacions d'inhibidors de la proteïna Apaf-1 amb potència i selectivitat optimitzades.

cara un refinament estructural posterior per esbrinar de manera concloent quina de les dues configuracions és la més activa. Aquesta informació ens pot ser de molta utilitat per confirmar a través del modelatge molecular com interaccionen els nostres inhibidors amb la proteïna Apaf-1 i per inspirar-nos el disseny d'anàlegs que complementin amb altres possibles aplicacions mèdiques els ja seleccionats de les generacions anteriors.

CONCLUSIONS

En termes més específics, s'han exposat exemples per mostrar que la química combinatòria constitueix una eina útil per a la identificació de molècules orgàniques petites actives davant d'una diana d'interès farmacèutic. Així doncs, quan la informació estructural sobre la diana és minsa, les quimioteques combinatòries de mesclades controlades ofereixen la possibilitat de cribratge d'un nombre elevat de composts, tot explorant una àmplia diversitat d'espai químic, emprant un nombre limitat d'assaigs biològics. A més, per als casos dels antagonistes del receptor TRPV1 o de la inhibició de la proteïna Apaf-1, s'ha vist com el concepte de modulació química permet la millora de les propietats fisicoquímiques i

farmacèutiques dels *hits* identificats i fa possible la seva conversió en candidats a fàrmac.

En termes més generals, el descobriment de fàrmacs continua sent una necessitat i, cada vegada més, un repte per a tots els sectors implicats. En un món on els costos per posar al mercat un medicament es veuen cada vegada incrementats per una sèrie de raons, algunes de difícil justificació (l'extrem zel de les agències reguladores, l'eixam d'interessos de propietat intel·lectual que cal superar per arribar a desenvolupar un fàrmac, la moltes vegades innecessària proliferació de tecnologies que aporten poc en aquest desenvolupament, etc.), persisteix i potser s'accentua la visió del fàrmac, sigui d'origen químic o biològic, únicament com un negoci. Sigui amb fàrmacs convencionals o amb els anomenats biològics, invertir en malalties del primer món i fer-ho perseguint el tractament crònic, tot deixant una mica de banda patologies que afecten una gran part de la població mundial minvada de recursos, tot plegat condueix a enterbolir la imatge de la indústria farmacèutica i dels interessos que la sostenen i l'afavoreixen. D'altra part, la capacitat de societat i govern en molts dels nostres països per afrontar la despesa farmacèutica ja ha començat a tocar sostre; és una despesa que no pot créixer indefinidament i a la qual serà necessari establir controls cada vegada més estrictes.

Amb tot, cal seguir en la recerca de noves estratègies per lluitar amb efectivitat davant de malalties prevalents. Les neurodegeneratives, el càncer, les immunitàries, les infeccioses, per esmentar-ne alguns grups, reclamen la millora dels tractaments o inclús que n'hi hagi algun a l'abast. És evident que la prevenció i el diagnòstic precoç seran sempre molt útils, però no n'hi haurà prou.

Descobriments de fàrmacs: repte i necessitat. El món acadèmic que s'hi dedica, l'industrial que hi treballa, el governamental que en regula el funcionament i la societat que és la receptora dels efectes, han de comprendre els dos vessants del problema, i aplegar esforços perquè es pugui avançar en la millora de la qualitat de la vida de la població com ha passat en els últims cent anys. Tothom viu millor que els seus avis i besavis i aquest és un benefici que no s'hauria de perdre: és la nostra necessitat i el nostre repte.

AGRAÏMENTS

Arribat a aquest punt, no em fóra lícit acabar sense deixar testimoni de l'agraïment més profund per a les persones que han influït d'una manera o altra perquè pogués desenvolupar la meua feina. No tinc espai per recordar-les totes, però sí que vull recordar el meu mestre de la química i de la formació com a investigador, en Fèlix Serratosa. També vull fer esment de l'amic Francesc Camps, per les nombroses oportunitats que em va donar al llarg dels anys que treballàrem plegats. És

ben palès que res del que he pogut fer hauria estat possible sense la col·laboració i l'entusiasme dels col·legues, graduats postdoctorals i estudiants de doctorat que han compartit il·lusions i projectes. Gràcies a tots, com també al suport rebut per part de Francisco Sánchez i Jordi Bujons al meu centre, i a Enrique Pérez-Payá i Antonio Ferrer-Montiel, per haver-me ajudat a explorar, tot caminant plegats, les àmplies avingudes de la química combinatòria. Finalment, vull agrair a la meua família, la trobada i la formada, el seu caliu i el fet de ser-hi sempre.

BIBLIOGRAFIA RECOMANADA

Per a tractaments més generals sobre química mèdica i descobriment de fàrmacs, consulteu les magnífiques revisions de *Nature Reviews in Drug Discovery*.

Per a una introducció general a la química combinatòria, vegeu:

MASIP, I.; MESSEGUER, A. «La química combinatòria al llindar del segle XXI». *Revista de la Societat Catalana de Química*, 3 (2002), p. 12-21.

Per a revisions sobre quimioteques combinatòries i síntesi en fase sòlida:

GUILLIER, F.; ORAIN, D.; BRADLEY, M. «Linkers and cleavage strategies in solid-phase organic synthesis and combinatorial libraries». *Chem. Rev.*, 100 (2000), p. 2091-2157.

Per a citacions generals sobre la feina de S. Schreiber, consulteu la seva producció a la pàgina web http://www.broadinstitute.org/chembio/lab_schreiber/home.php.

Per a treballs del grup sobre quimioteques i la seva aplicació a la identificació de molècules d'interès biomèdic:

MASIP, I.; CORTÉS, N.; ABAD, M. J.; GUARDIOLA, M.; FERRAGUT, J.; FERRER-MONTIEL, A.; MESSEGUER, A. «Design and synthesis of an optimised positional scanning library of peptoids: identification of novel multidrug resistance reversal agents». *Bioorg. & Med. Chem.*, 13 (2005), p. 1929-1936.

MOURE, A.; SANCLIMENS, G.; MASIP, I.; ÁLVAREZ, A.; BUJONS, J.; PÉREZ-PAYÁ, E.; ALFONSO, I.; MESSEGUER, A. «Chemical modulation of peptoids: synthesis and conformational studies on partially constrained derivatives». *Chem. Eur. J.*, 17 (2011), p. 7927-7939.

VIDAL, M.; FERNÁNDEZ-CARVAJAL, A.; MOURE, A.; GOMIS, A.; VALENTE, P.; VIANA, F.; PLANELLS-CASES, R.; GONZÁLEZ-ROS, J. M.; BELMONTE, C.; BUJONS, J.; FERRER-MONTIEL, A.; MESSEGUER, A. «Triazine-based open channel receptor blockers: design, synthesis, evaluation and SAR data». *J. Med. Chem.*, 54 (2011), p. 7441-7452.

- Per a revisions generals sobre l'apoptosi, vegeu:
- PÉREZ-PAYÁ, E.; ORZÁEZ, M.; MONDRAGÓN, M.; WOLAN, D.; WELLS, J. A.; MESSEGUER, A.; VICENT, Maria J. «Molecules that modulate Apaf-1 activity». *Med. Res. Rev.*, 31 (2011), p. 649-675.
- DEGTEREV, A.; YUAN, J. «Expansion and evolution of cell death programmes». *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 9 (2008), p. 370-390.
- HAIL, N.; CARTER, B.; KONOPLEVA, M.; ANDREEFF, M. «Apoptosis effector mechanisms: A requiem performed in different keys». *Apoptosis*, 11 (2006), p. 889-904.

