

La capacitat d'unir fàrmacs: un criteri fonamental a l'hora d'escollir una diana terapèutica



D'entre els diversos mètodes terapèutics, el tractament farmacològic destaca per la seva versatilitat, facilitat d'aplicació i eficàcia. Això es fa especialment evident cada vegada que s'aprova un nou medicament que cobreix noves necessitats, com ara els anti-VIH, o que substitueix tractaments més traumàtics, com poden ser els quirúrgics. Malauradament, ni els increïbles avenços biomèdics de les darreres dècades, ni un increment del 1.000% en la despesa han permès augmentar la productivitat de la recerca farmacèutica (vegeu figura 1). En aquest sentit, el grup de Biologia Computacional i Disseny de Fàrmacs (Departament de Físicoquímica, Facultat de Farmàcia, Universitat de Barcelona), usuari del Servei de Disseny de Fàrmacs (SDF) del CESCA i liderat per Xavier Barril i F. Javier Luque, té per objectiu eliminar incerteses en el procés de selecció de dianes terapèutiques (vegeu la definició al destacat), desenvolupant noves eines que permeten identificar aquelles proteïnes que poden ser modulades per l'acció de fàrmacs.

“Resulta especialment sorprenent que el nombre de noves dianes terapèutiques s'hagi mantingut constant en els darrers 25 anys, amb una mitjana de 5,4 per any i només l'1,9 d'aquestes dianes terapèutiques es corresponen a noves famílies de proteïnes. Factors de diferent índole han contribuït a aquest fet, però sense cap dubte, un aspecte important ha estat el fet que moltes potencials dianes terapèutiques resulten ser 'immedicables' (*undruggable*, en anglès), a conseqüència que interaccionen poc o gens amb les molècules de tipus fàrmac”, comenta Barril. De fet, alguns components biològics que juguen un paper fonamental (per exemple, l'ADN, l'ARN o les interaccions proteïna-proteïna) són particularment refractaris a la seva modulació farmacològica i, malgrat el seu enorme potencial terapèutic, no se'ls té en compte com a dianes.

Contràriament, els enzims i les proteïnes receptors o transportadors són particularment sensibles a l'acció dels fàrmacs i això es reflecteix en el fet que un 90% de les dianes terapèutiques dels fàrmacs aprovats corresponen a aquests tipus de proteïnes (vegeu la distribució per tipus a la figura 2). No obstant això, “assumir la 'medicabilitat' d'una possible diana terapèutica

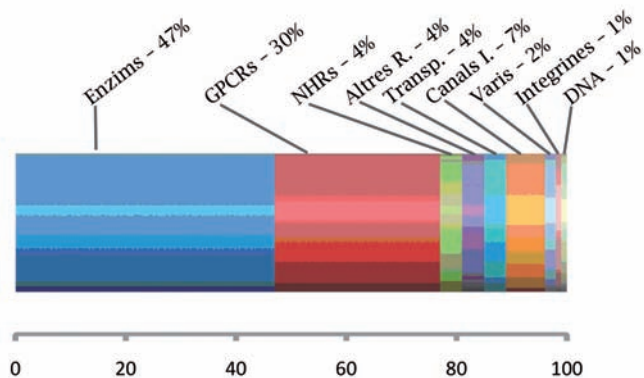
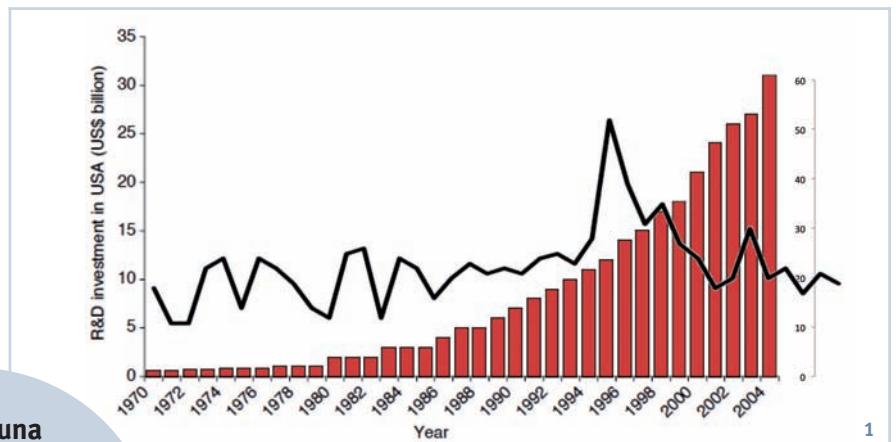
en base a la seva classificació resulta inexacte i antieconòmic”, explica Barril. Per exemple, després de fer costoses campanyes de descobriment de compostos actius, fins a un 50% dels enzims resulten ser 'immedicables'. D'altra banda, cen-

trar-se en les dianes teòricament més 'fàcils' dona lloc a pèrdua d'oportunitats i descarta mecanismes d'acció més innovadors. Per aquest motiu, “ens vam convèncer de la necessitat de poder predir quins llocs en la superfície de les proteïnes tenen la capacitat d'unir molècules de tipus fàrmac amb alta afinitat”, comenta Barril. De fet, “hem desenvolupat dos mètodes radicalment diferents, pensats per ser aplicats en tàndem”, afegeix.

El requisit essencial del primer mètode era que havia de ser ràpid i automàtic, per tal de poder processar milers d'estructures cristal·logràfiques en poc temps. Per aquest motiu, es va optar per un mètode paramètric, entrenat amb un conjunt de cavitats de proteïnes a les quals es coneix la seva capacitat d'unir molècules de tipus fàrmac. El programa *fpocket*, de distribució lliure i desenvolupat per Peter Schmidtke al grup, detecta de forma automàtica totes les cavitats i n'extreu uns descriptors a partir dels quals fa una predicció de la seva 'medicabilitat'. “Tenir accés al Servei de Disseny de Fàrmacs del CESCA ens ha permès comparar els nostres resultats amb l'únic programari publicat que té unes capacitats semblants, el *SiteMap* d'Schrödinger”, explica Barril.

Què és una diana terapèutica?

Utilitzant la simple però efectiva visió del reconeixement biològic proposat per Emil Fisher, una diana terapèutica és el **pany** al qual li correspon una activitat biològica i el fàrmac, la **clau** que el modifica.



Així, “vam veure que, malgrat ser una eina totalment automàtica, la qualitat dels nostres resultats és igual que la d’altres mètodes que requereixen de la intervenció de l’usuari”, comenta. A més, “per la seva eficiència computacional és l’únic que fa possible l’anàlisi completa de totes les estructures de proteïnes publicades, més de 65.000 al Protein Data Bank (PDB), en uns pocs dies de CPU. Així, hem creat una base de dades que conté tots els llocs d’unió pressuposadament ‘medicables’, i resulta interessant que menys d’una quarta part d’aquestes uneix molècules de tipus fàrmac”, apunta Barril. Aquest fet suggereix l’existència d’un bon nombre de llocs potencialment útils, per exemple, per exercir una modulació al·lostèrica, que en l’actualitat no s’utilitzen.

Els mètodes empírics confereixen uns avantatges de rendiment evidents, però la qualitat dels resultats ve limitada per la composició del conjunt de dades utilitzades per entrenar-los. Atès que els llocs d’unió utilitzats per entrenar el model corresponen majoritàriament a enzims o receptors, existeix la possibilitat que les prediccions per a altres tipus de cavitats (per exemple, un lloc d’interacció proteïna-proteïna) perdin validesa. Pensant en

aquesta eventualitat, “hem desenvolupat un segon mètode de predicció de llocs d’unió de fàrmacs; aquest cop basat en mètodes fisicoquímics”, explica Barril. La raó per la qual les macromolècules biològiques s’associen entre elles o amb els fàrmacs és perquè part de la seva superfície s’estima més interaccionar amb molècules orgàniques que no pas amb ai-

Xavier Barril “Volem definir quins llocs en la superfície de les proteïnes tenen la capacitat d’unir molècules de tipus fàrmac amb alta afinitat”

gua. Aquesta preferència a desolvatar-se és intrínseca als llocs d’unió i, “tal com s’ha demostrat experimentalment, origina que la majoria de dissolvents orgànics de baix pes molecular s’hi uneixin”, aclareix Barril.

Realitzant simulacions de dinàmica molecular amb una barreja orgànica/aquosa com a dissolvent, es poden reproduir aquests experiments. Si l’espai configuracional solut-solvent es mostreja ex-

haustivament, els mètodes computacionals ofereixen, a més, la possibilitat de quantificar l’energia lliure associada. El mètode s’ha demostrat eficaç per detectar els anomenats llocs d’unió ‘calents’, tant si aquests corresponen a interaccions proteïna-proteïna o proteïna-lligand. Quan diversos d’aquests punts es localitzen a prop en l’espai, es poden agrupar per obtenir una definició natural dels llocs d’unió de molècules tipus fàrmac i per predir quina és la màxima afinitat que podrien arribar a assolir.

Segons Xavier Barril, “la combinació d’aquestes dues tècniques ens ofereix una manera racional d’identificar nous llocs d’intervenció farmacològica. Junta-ment amb altres tècniques de disseny racional de fàrmacs, això ens està servint per explotar nous mecanismes d’acció i, deixant de banda apriorismes, explotar aquelles dianes terapèutiques que ofereixen un major potencial”.

P. SCHMIDTKE, X. BARRIL. “Understanding and predicting druggability. A high-throughput method for detection of drug binding sites”, *J. Med. Chem.* 2010 Aug 12;53(15):5858-67.

J. SECO, F. J. LUQUE, X. BARRIL. “Binding site detection and druggability index from first principles”, *J. Med. Chem.* 2009 Apr 23;52(8):2363-71.

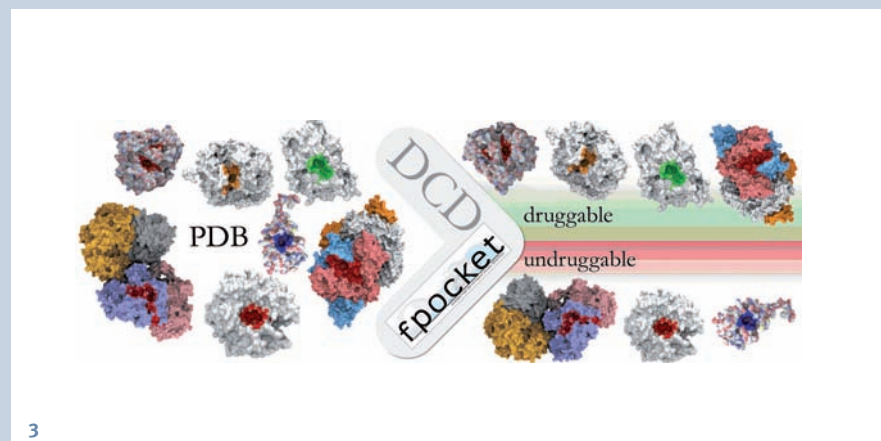


Figura 1. Evolució temporal: Nombre de noves entitats químiques aprovades per l’FDA (línia negra) respecte a la despesa en recerca farmacèutica als EUA (barres vermelles). La mitjana és 22 per any, de les quals només 5,4 actuen sobre noves dianes terapèutiques.

Figura 2. Distribució per tipus: Els enzims (47%) i receptors (38%) constitueixen la major part de les dianes terapèutiques explotades per a fàrmacs aprovats.

Figura 3. Un mètode automàtic (fpocket) detecta cavitats a les superfícies de les proteïnes, extraient-ne paràmetres característics que permeten avaluar la seva capacitat d’unir molècules de tipus fàrmac. El càlcul triga 1 o 2 segons per estructura en un ordinador de sobretaula.

Figura 4. Una dinàmica molecular de la proteïna amb solvent explícit (isopropanol/aigua al 20% v/v) permet detectar els llocs on la proteïna mostra afinitat per molècules orgàniques. Mitjançant un tractament estadístic s’identifiquen els llocs d’unió i es quantifica la màxima afinitat que una molècula tipus fàrmac podria assolir-hi. El càlcul tindria una duració d’una setmana utilitzant 16 nodes del nou Altix UV 1000, però no requereix informació empírica.

