

# SEBBM DIVULGACIÓN

## ACÉRCATE A NUESTROS CIENTÍFICOS



### El impacto de las nuevas tecnologías de cribado farmacológico en el proceso de descubrimiento de fármacos

**Emilio Díez Monedero**  
GlaxoSmithKline I+D. Parque Tecnológico de Tres Cantos, Madrid

#### **Biografía**    **Resumen**

*Emilio Díez Monedero es Ldo. en Ciencias Químicas y Doctor en Bioquímica por la Universidad Complutense de Madrid. Inició su actividad investigadora en el Hospital Universitario San Carlos en Madrid, donde se dedicó al estudio de las fosfolipasas y su papel en mecanismos de señalización celular. Desde allí se trasladó a Estados Unidos, inicialmente a la Escuela de Medicina de la Universidad de Massachussets. Posteriormente se incorporó a GlaxoSmithKline en Filadelfia, y en 1992 al Centro que la compañía abrió en el Parque Tecnológico de Tres Cantos en Madrid. Desde entonces sus intereses se han dirigido a la identificación de productos naturales y compuestos de síntesis química con actividad farmacológica en varias áreas terapéuticas. Actualmente es Director del Centro de "Molecular Discovery Research" de GSK en España que, desde su creación, se ha convertido en unidad de referencia para el cribado molecular de alto rendimiento (HTS). Con una de las mayores colecciones de compuestos del mundo y completamente automatizado, el Centro de Madrid colabora en proyectos de investigación con grupos de investigación de GSK en Europa, Asia y Estados Unidos.*

**El término "High Throughput Screening (HTS)", o cribado farmacológico de alto rendimiento, consiste en estar grandes colecciones de compuestos químicos o productos naturales para identificar moléculas biológicamente activas. En la era post-genómica, el HTS está siendo fundamental para el descubrimiento de nuevos fármacos.**

#### **Summary**

**The term High Throughput Screening (HTS) was coined to describe an efficient and highly automated pharmacological screening process. It is used to screen large chemical and natural products collections. After the publication of the human genome sequence, HTS has played a critical role in early Drug Discovery.**

<http://www.sebbm.es/>

HEMEROTECA:

[http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos\\_10/acercate-a-nuestros-cientificos\\_107](http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/acercate-a-nuestros-cientificos_107)

La innovación en las ciencias de la salud ha tenido en las últimas décadas una gran repercusión en la calidad de vida y en el tratamiento de enfermedades. Un buen ejemplo es el descubrimiento de las bases moleculares de algunos tipos de cáncer y el consecuente impacto en el desarrollo de nuevos medicamentos. Una etapa fundamental en este proceso es la identificación, mediante técnicas de cribado farmacológico, de compuestos químicos que interactúan con las macromoléculas implicadas en los procesos patológicos, modulando así su actividad biológica.

El HTS ha evolucionado considerablemente desde su comienzo en los años 90 (1). En sus orígenes la tecnología permitía testar unos pocos miles de compuestos en unos meses, y se consideraba un éxito el encontrar alguno cuya potencia estuviera en el rango  $\mu\text{M}$ . Hoy en día se pueden evaluar millones de compuestos en unos pocos días. En la mayoría de los casos se identifican series químicas con potencias nM, donde en muchos casos puede observarse claramente una relación estructura-actividad entre los compuestos activos. Además, los procesos de HTS permiten evaluar los compuestos activos en ensayos secundarios de selectividad frente a otras macromoléculas, así como en ensayos biológicamente más complejos: control de rutas metabólicas, monitorización de eventos intracelulares, perfiles de expresión génica, etc. El acceso rápido a todos estos datos permite acelerar considerablemente la identificación de compuestos cabezas de serie para su posterior transformación en candidatos a desarrollo clínico (1), o la identificación de sondas moleculares que permitan validar la diana de interés para su uso terapéutico (2)

En GSK hemos creado dos unidades de HTS, una de ellas en Tres Cantos (Madrid), lo que ha supuesto una fuerte inversión. El primer reto fue la creación de la infraestructura necesaria para la gestión de las colecciones de compuestos químicos. En colaboración con varias empresas de ingeniería y automatización, hemos construido una unidad automatizada para el almacenamiento y manejo más de 2 millones de muestras químicas. Una parte integral de este sistema son los equipos de dispensación de compuestos en las placas de ensayo. Para ello utilizamos dispositivos que, mediante energía acústica o piezoeléctrica, son capaces de dispensar nL de compuestos con alta precisión y exactitud. Otro objetivo muy importante es aumentar continuamente

la diversidad química de la colección mediante la síntesis interna o en colaboración con otros grupos o empresas.

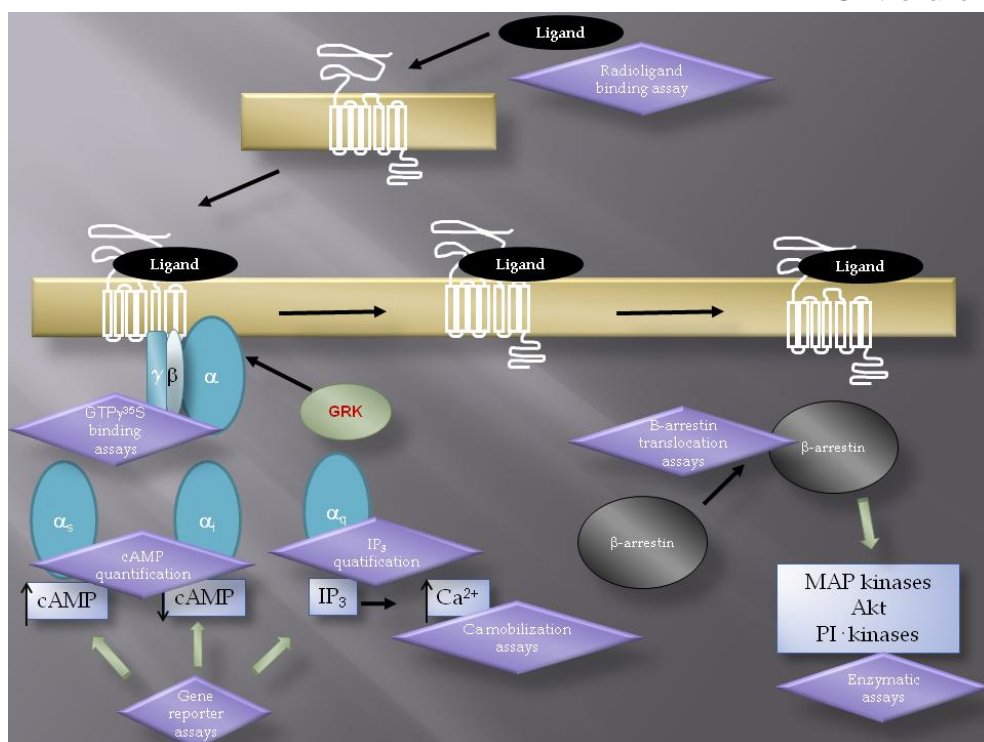
El diseño de nuevas tecnologías de ensayos (3,4) y el desarrollo de métodos de análisis de datos (5) son otras áreas clave en el proceso de HTS. Sirvan como ejemplo los cambios en las técnicas de cribado farmacológico para el estudio de los receptores de membrana acoplados a proteínas G (Figura) (4). El método tradicional estaba basado en la unión de ligando marcado radiactivamente a membranas celulares, con posterior filtración para separar el ligando unido del libre. En la actualidad se utilizan una variedad de técnicas homogéneas para medir la unión del ligando al receptor (centelleo por proximidad) o las respuestas intracelulares mediadas por estos receptores (movilización de calcio intracelular, producción de cAMP, o traslocación de  $\beta$ -arrestina). Para monitorizar las cinéticas de  $Ca^{2+}$  intracelular se utilizan sondas fluorescentes sensibles a la concentración de  $Ca^{2+}$ , o bio-sensores proteicos (aequorin). Todos estos métodos se llevan a cabo en volúmenes de ensayo muy reducidos (1-5  $\mu$ L) y en micro-placas de alta densidad. Aproximaciones similares se han desarrollado para otras familias de dianas moleculares, tanto solubles (enzimas o receptores nucleares) como proteínas unidas a membranas (canales iónicos, receptores de citoquinas, etc).

Aunque es todavía prematuro evaluar el impacto real de las inversiones realizadas en HTS, ya existen algunos productos en el mercado cuyo origen está en la utilización de estas nuevas tecnologías. Entre ellos destacan los inhibidores de tirosin quinasas (gefitinib, erlotinib, sorafenib y lapatinib) para el tratamiento del cáncer, los inhibidores de proteasas (tipranavar y sitagliptin) para el tratamiento de VIH y la diabetes respectivamente, o el trombopag, que mimetiza el efecto de la trombopoietina para el tratamiento de la trombocitopenia. Los datos de productos en desarrollo clínico y preclínico también apuntan a una contribución importante del HTS a los proyectos actualmente en estas etapas de desarrollo (6).

Es importante añadir que aunque el HTS se utiliza de manera generalizada para la identificación al azar de compuestos que interaccionan con la diana de interés, esta información se complementa habitualmente con técnicas basadas en el conocimiento estructural de la diana. Por ejemplo, siempre que es técnicamente posible, se utiliza la co-cristalización y análisis por rayos X de la proteína de interés unida a los compuestos activos. La interpretación de estos datos estructurales ayuda a entender mejor los resultados generados en el HTS, contribuyendo de esta manera a una mejor selección de los compuestos que serán utilizados en los programas de optimización química.

## Referencias

1. Industrialization of the screening process (2004) E. Diez, S. Holland, J.A. et al. Eur. Pharm. Reviews 9(1).74-77.
2. High-throughput screening assays for the identification of chemical probes (2007) J. Inglese, R.L. Johnson, et al. Nat. Chem. Biol. 3, 466-479.
3. A homogenous method to measure aminoacyl-RNA synthetase activities using scintillation proximity assay technology (2000) R. Macarron, L. Mensah, et al. Anal. Biochem. 284, 183-190.
4. Screening technologies for G-protein coupled receptors: from HTS to uHTS (2009) M. de los Frailes and E. Diez. Methods in Mol. Biol. 552, 15-37.
5. Validation and Screen Reproducibility in High Throughput Screening (2009) I. Coma, L. Clark, et al. J. Biomol. Screening 14(1), 66-76.
6. High throughput screening contribution to Drug Discovery (2008) E. Diez. 9th Annual Drug Discovery Leaders Summit, Montreaux, Switzerland.



**Figura. Diferentes eventos y metabolitos que pueden ser cuantificados para realizar HTS para receptores acoplados a proteínas G.**