

# Cribado y descubrimiento temprano de fármacos

José Brea, José Manuel Santamaría, María Isabel Loza

Departamento de Farmacología. Facultad de Farmacia. Centro de Investigación CIMUS  
Universidad de Santiago de Compostela, España

Desde hace más de quince años España hizo una apuesta por el sector del descubrimiento de fármacos. En este tiempo se crearon infraestructuras públicas complementarias y se financiaron muchos proyectos público-privados estratégicos en innovación abierta en el ámbito. Por ejemplo, los proyectos *CENIT Genius* y *NeoGenius Pharma*. Sin embargo, este camino tan innovador en España se ha frenado por la crisis de 2008, que conllevó el cierre del I+D de varias compañías farmacéuticas y se echa de menos ahora cuando se requieren esfuerzos de I+D farmacéutico para la generación de nuevas vacunas frente al SARS-Cov-2. Pero la apuesta público-privada en descubrimiento de fármacos que generó la especialización y el mantenimiento de infraestructuras sostenibles en España ha permitido que, a pesar de la crisis, el sector haya mantenido su complementariedad y conexión en red que cubre todo el proceso de descubrimiento temprano de fármacos. Todo ello explica que España sea el país con más nodos en el ERIC (*European Research Infrastructure Consortium*) EU-OPENSREEN.

Describimos a continuación dicho proceso y las conexiones en red mencionadas.

## FASES DEL PROCESO DE DESCUBRIMIENTO DE FÁRMACOS

El descubrimiento de un nuevo medicamento es un proceso largo y complejo que requiere, además de los nuevos descubrimientos en farmacología, en química y en biología, la realización de largos y costosos ensayos clínicos. Consta de tres importantes etapas: investigación (partiendo del concepto terapéutico hasta la molécula), desarrollo (desde la molécula al medicamento registrado) y comercialización (desde el medicamento registrado a la aplicación terapéutica y al mercado). Estas etapas no son independientes, sino que están perfectamente coordinadas entre sí durante todo el proceso (*Figura 1*, panel superior).

La diana terapéutica es el lugar físico clave para el mecanismo molecular de la enfermedad. A ella se une el fármaco para producir una respuesta que modifica el curso de la enfermedad.

Según su origen existen distintos tipos de agentes terapéuticos, así se pueden clasificar en:

- **Químicos:** Medicamentos de bajo peso molecular. Su descubrimiento se basa en la optimización de *hits* y *leads* hasta fármacos candidatos. En ellos nos centramos a continuación.
- **Biológicos:** Proteínas o citoquinas recombinantes, vacunas, anticuerpos, proteínas de fusión, terapia génica.
- **Celulares:** Car-T, TILs, etcétera.

La investigación farmacéutica en terapia celular tiene un componente basado en la biología molecular y no forma parte del objetivo del presente artículo.

La información científica relacionada con un nuevo proyecto de descubrimiento deberá justificar que la modulación de la diana, además de producir el efecto terapéutico deseado, será segura. Es decir, el margen terapéutico del fármaco que va a modular esa diana deberá ser aceptable para la población de pacientes a los que va dirigido.

En la etapa de investigación se trata de encontrar la molécula idónea para modular la diana y demostrar si puede desarrollarse química (o biológicamente) como candidato a fármaco optimizando su eficacia, farmacocinética y seguridad, hasta un candidato a estudios preclínicos y clínicos, para convertirse en un medicamento. Este proceso conlleva las siguientes fases:

### 1) Identificación y validación de la diana

La definición de una nueva diana terapéutica es relativamente simple en enfermedades monogénicas, caracterizadas por ser causadas por un único alelo y por tanto la intervención sobre ese gen conllevaría un efecto terapéutico. Sin embargo, en enfermedades complejas como el cáncer, enfermedades neurodegenerativas o diabetes tipo 2 entre otras, existen múltiples variables, incluyendo factores ambientales, genéticos, de género o de edad que condicionan la aparición y/o la severidad de la patología. En este último caso, la identificación de nuevas dianas constituye un auténtico reto debido a la comunicación cruzada intracelular entre distintas vías de señalización



**Figura 1**

Proceso de investigación y desarrollo de fármacos.

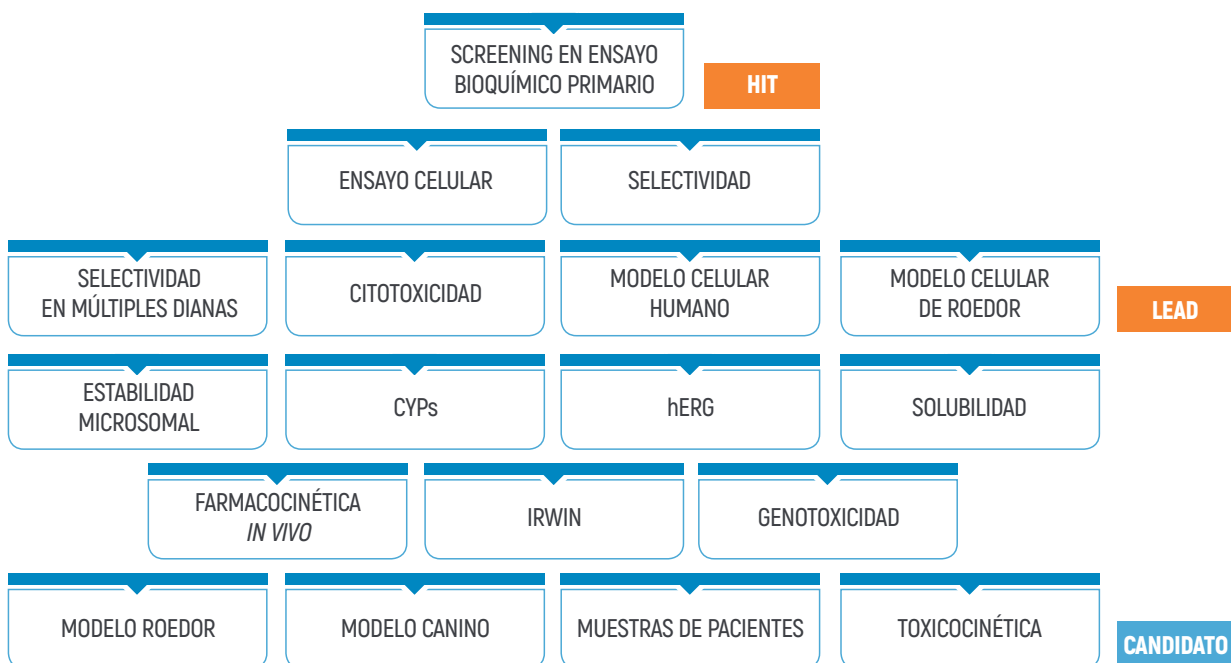
y redes de interacciones que resultan en redundancias funcionales y mecanismos compensatorios.

Una vez identificada/s la/s diana/s terapéutica/s, se procede a la validación de esta por estudios *in vitro* e *in vivo*. Es decir, demostrando experimentalmente, que su modulación por un fármaco puede modificar la progresión y/o los síntomas de la enfermedad para la que ha sido identificada. Esta validación se lleva a cabo bien mediante la modulación genética de la diana en modelos celulares y/o animales (CRISPR-Cas9, RNAi, microRNAs, entre otros abordajes) o bien mediante la modulación química con compuestos conocidos o anticuerpos. Aunque no podemos olvidar que la validación real de una diana se consigue cuando el fármaco revierte los síntomas asociados a la enfermedad en seres humanos (etapa de desarrollo clínico).

Para el caso de moléculas de origen biológico o para terapia celular los procesos implican la producción biológica (crecimiento, aislamiento, purificación, transfección, etc) y una metodología dependiente del origen biológico del producto que no es objeto de este trabajo.

2) *Identificación de hits*

Tras validar la diana es necesario identificar, seleccionar y optimizar un compuesto químico que la module. Para ello, en primer lugar, se define una hoja de ruta donde se establecen los estudios a realizar para la caracterización y optimización de los compuestos, no sólo frente a la diana, sino también para el estudio de su selectividad, farmacocinética y su eficacia en modelos animales (*Figura 2*). >>>



**Figura 2**

Ejemplo de hoja de ruta de cribado de fármacos.

»» Para el caso de fármacos de bajo peso molecular de origen químico, en que nos centramos en este artículo, esta etapa comienza generalmente con la evaluación de las actividades de decenas a millones de moléculas frente a la diana. También puede empezar por un compuesto identificado como punto de partida, para el que se plantea una sustitución-mejora.

Actualmente, la búsqueda de compuestos de partida de bajo peso molecular se puede realizar a gran escala con equipos robotizados (cribado de alto rendimiento o *HTS*). Los resultados obtenidos permiten identificar los compuestos más activos para la diana propuesta (que se denominan *hits*).

Los ensayos para la identificación de *hits* pueden ser tanto ensayos bioquímicos (enzimáticos, de unión de radioligandos, interacción proteína-proteína, etcétera) como ensayos celulares, en los que, a su vez, se puede evaluar una acción ligada a la diana (activación de vías de señalización, movilización de biomarcadores, etcétera) o bien ensayos fenotípicos (citotoxicidad, crecimiento de neuritas, alteraciones en ciclo celular, etcétera).

Para su utilización en campañas de *HTS* los ensayos deben pasar por un proceso de miniaturización que permita su ejecución de forma totalmente automatizada. Así, los ensayos deben ser escalables a placas multipocillo (de 96, 384 o 1.536 pocillos) sin una pérdida significativa de la respuesta y deben ser robustos y reproducibles, determinando distintos factores como son la estabilidad de la ventana de señal, la tolerabilidad al solvente en que están disueltos los compuestos, o la dispersión de los datos, entre otros parámetros de calidad.

Normalmente, las campañas de *HTS* se realizan mediante el ensayo de los compuestos a una única concentración y sin replicados, lo que conlleva la utilización de estrictos controles de calidad en cada campaña para minimizar la aparición de falsos positivos o falsos negativos. Una vez identificados los *hits*, estos se evalúan en un ensayo independiente para confirmar su actividad. Los *hits* confirmados se ensayan a distintas concentraciones para determinar su potencia sobre la diana/fenotipo a estudio.

Es práctica habitual someter a los *hits* identificados a un ensayo ortogonal en el que se evalúa la actividad de los *hits* sobre la diana/fenotipo, pero utilizando una metodología distinta a la del ensayo primario. Esto permitirá seleccionar aquellos *hits* con actividad real sobre la diana y descartar aquellos que se identificaron por presentar algún tipo de interferencia con el ensayo (compuestos autofluorescentes, agregados, actividad en algún componente de la reacción, etcétera).

Un importante factor para tener en cuenta en la identificación de *hits* es la composición de la colección de compuestos que se evalúa en los ensayos de *HTS*. Estas librerías químicas, o quimiotecas, normalmente se construyen incluyendo compuestos procedentes de proveedores comerciales o bien compuestos de nueva síntesis de grupos académicos. Los compuestos se seleccionan atendiendo a que cubran el máximo espacio estructural posible, lo que amplía las posibilidades de identificar *hits* en distintas dianas, y descartando aquellos compuestos que presenten determinadas reactividades, como es el caso de detergentes, agentes desnaturalizantes, etcétera.

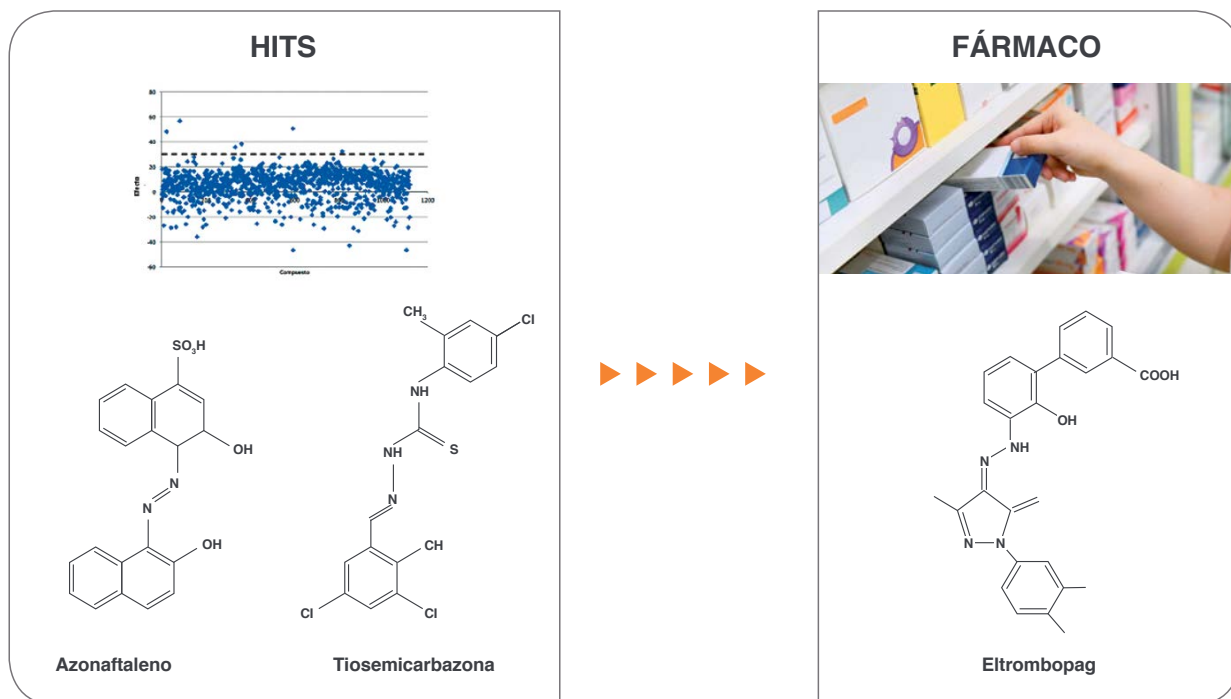
### 3) Identificación y optimización de *leads*

La etapa del paso del *hit* al cabeza de serie o *lead* químico consiste en llevar a cabo actividades de química terapéutica, en paralelo con la farmacología, partiendo de los *hits* seleccionados, para desarrollar compuestos que presenten las características farmacológicas más favorables y para los que pueda ser protegida su propiedad intelectual. Es en este proceso donde se llevan a cabo estudios de relación-estructura actividad de los *hits* seleccionados para identificar conjuntos de *hits* que supongan un buen punto de partida para su optimización hacia la obtención de *leads*.

Este es un proceso iterativo y multidisciplinar que se lleva a cabo de acuerdo con la hoja de ruta definida previamente y comprende ensayos relacionados tanto con la eficacia, como con la seguridad y biodisponibilidad de los compuestos. Así, los *hits* identificados en la etapa anterior se estudian frente a distintas anti-dianas (aquellas dianas relacionadas con efectos secundarios) para determinar su selectividad, en modelos celulares relevantes para la patología para estudiar su eficacia y en distintos ensayos de farmacocinética preliminar *in vitro* para predecir su solubilidad, permeabilidad y metabolismo. Con esta información, los equipos de química terapéutica llevan a cabo la optimización de los compuestos buscando incrementar su potencia y mejorar su selectividad y farmacocinética.

Habitualmente, se trata de optimizar *leads* de distintas series químicas (entre 2 y 5) para mejorar la eficacia y selectividad de los compuestos. Según avanza el programa de optimización los resultados obtenidos llevarán a priorizar aquellas series en las que se obtengan mejoras en los distintos parámetros de los compuestos.

De este modo, normalmente se completa la optimización para dos series con el objetivo de identificar un candidato a preclínica y un “*back-up*” con una estructura química diferente al compuesto candidato a estudios preclínicos.



**Figura 3**

Evolución de las características estructurales de los hits identificados hasta el fármaco comercializado Eltrombopag.

Los datos de caracterización de seguridad/toxicidad pueden usarse para tomar una decisión temprana en la fase de optimización de *leads* evitando fracasos posteriores.

Esta fase en las moléculas de origen biológico y en la terapia celular, no tiene lugar, sino que se conectan desde la fase de *hits* (más larga que la de fármacos de origen químico) a la de candidatos.

#### 4) Identificación de candidatos preclínicos

Esta fase final supone la entrada del compuesto candidato (químico/biológico/celular) en la fase de ensayos preclínicos (que incluyen pruebas de biodisponibilidad, de seguridad y de eficacia en modelos animales de al menos dos especies, así como ensayos traslacionales). Siguiendo esta estrategia, suelen pasar varios años antes de que unos pocos compuestos se seleccionen como candidato para avanzar en el desarrollo.

La traslacionalidad es la principal dificultad de esta etapa, ya que con frecuencia los modelos animales resultan poco predictivos de la enfermedad humana. Por ello, resulta crítica la identificación de marcadores de acompañamiento que permitan evaluar los primeros signos biológicos de una respuesta terapéutica en las fases iniciales de ensayos clínicos. La obtención de

estos modelos es foco de un profundo debate e interés en el descubrimiento de fármacos.

Tras todo este proceso de optimización, el compuesto candidato pocas veces posee características estructurales similares al *hit* identificado en el ensayo primario. Sirva a modo de ejemplo el caso del Eltrombopag un agonista del receptor de trombopoyetina aprobado para el tratamiento de la trombocitopenia y descubierto por la compañía farmacéutica GSK. Este compuesto se derivó a partir de un cribado de HTS donde se encontraron distintos hits pertenecientes a dos familias químicas: azonaftalenos y semicarbazidas. Ambas familias presentaban malas propiedades fisicoquímicas, que se optimizaron durante el proceso de optimización de *leads*. Este proceso de optimización comenzó sobre la familia de azonaftalenos y la posterior combinación de ambas series de hits. La optimización de los compuestos llevó a una importante mejora en la biodisponibilidad oral del producto y a la identificación del eltrombopag para su desarrollo clínico (Figura 3).

### REDES Y CONSORCIOS PÚBLICOS DE INVESTIGACIÓN EN DESCUBRIMIENTO DE FÁRMACOS.

La realización de ensayos de HTS requiere la utilización de equipamiento automatizado que permita evaluar >>>

>>> cientos/miles de compuestos por día y el almacenamiento de la información en bases de datos relacionales que permitan el análisis y almacenamiento de datos (Figura 4). Estos laboratorios, que se empezaron a implantar en la industria farmacéutica en la última década del siglo XX, son cada vez más habituales en centros públicos de investigación para su utilización en los estadios tempranos del proceso de I+D de fármacos.

Estas posibilidades de cribado académico, junto con las capacidades de síntesis de los grupos químicos públicos y la creación de amplias librerías públicas y privadas, han llevado a constituir distintos consorcios público-privados, tanto españoles como europeos, dirigidos a acelerar las fases tempranas de descubrimiento de fármacos y herramientas químico-biológicas. Así, en Galicia se constituyó en el año 2006 la Red Gallega de I+D de Medicamentos (REGID; <http://regid.cesga.es/>), la primera red del ámbito en España, que agrupa a 30 grupos de investigación en química y biomedicina aplicadas con el objetivo de trasladar la investigación científica al inicio de programas de descubrimiento de fármacos.

En el año 2008 se fundaron el *ChemBioBank* y la *Spanish Drug Discovery Network* (SDDN) con el objetivo de colaborar entre grupos españoles, tanto públicos como privados, en descubrimiento de fármacos.

En el año 2016 nació la primera la Red Temática de Excelencia en descubrimiento de fármacos REDEFAR (<https://www.redefar.com/>), que engloba a grupos de bioinformática, química médica, cribado farmacológico *in vitro* y estudios *in vivo*, con el objetivo de aportar valor en cada una de las etapas de descubrimiento de fármacos y reducir el riesgo inherente de este proceso. A partir de esta red, se creó en 2017 la Comunidad Redefar abierta a los distintos actores públicos y privados del descubrimiento de fármacos español, con más de doscientos integrantes, coordinada con la Plataforma Tecnológica de Medicamentos Innovadores (PTEMI), con ASEBIO, con la SDDN y con otras redes españolas y europeas.

En Europa, tras 10 años de una fase ESFRI preparatoria, en 2018 se constituyó el ERIC EU-OPENSSCREEN (<https://www.eu-openscreen.eu/>) cuyo objetivo es contribuir al descubrimiento de nuevas sondas químicas y fármacos en abierto para la comunidad científica europea, con una quimioteca pública compuesta por 140.000 compuestos seleccionados. Este ERIC integra a veintitrés socios de ocho países y cuenta con siete plataformas de cribado de altas capacidades, de las cuales dos de ellas se encuentran en España (Fundación Medina en Granada y Universidad de Santiago de Compostela) y dieciséis plataformas especializadas que llevan a cabo cribados de menor rendimiento, entre las que se encuentra el Centro de Investigación Príncipe Felipe de Valen-



**Figura 4**

Laboratorio académico de cribado de alto rendimiento.

cia. Asimismo, EU-OPENSSCREEN incorpora cinco grupos de química terapéutica para la optimización de los *hits* identificados, entre los que se encuentra el CSIC y, entre los grupos computacionales, se encuentra el Parc Salut Mar de Barcelona.

Conectada con el ERIC EU-OPENSSCREEN, en España se constituyó en 2019 la Red Estratégica ES-OPENSSCREEN que aglutina a los nodos españoles participantes en EU-OPENSSCREEN y cuyo objetivo es posicionar estratégicamente la investigación en biomedicina/química de los grupos españoles, conectándolos con EU-OPENSSCREEN y con otras iniciativas internacionales.

En resumen, el proceso de descubrimiento de fármacos es un proceso estructurado en el que convergen equipos multidisciplinares hacia el objetivo de ofrecer nuevas soluciones terapéuticas a los pacientes. En las últimas décadas, este proceso pasó de ser estrictamente industrial a ser un proceso colaborativo en el marco de un concepto de innovación abierta, donde los grupos públicos de investigación juegan cada vez un papel más relevante y en el que la creación de redes y consorcios es la vía actual para estudiar nuevas dianas o explorar nuevos compuestos químicos. Las redes REDEFAR y ES-OPENSSCREEN son una invitación a la interacción de los grupos químicos, farmacológicos y, en general, biomédicos de España con EU-OPENSSCREEN. ■

#### PARA LEER MÁS

- Brennecke P y cols. "EU-OPENSSCREEN: A novel collaborative approach to facilitate chemical biology". *SLAS Discovery* 24 (2019) 398-413.
- Macarron R y cols. "Impact of High-throughput screening in biomedical research". *Nature Reviews Drug Discovery* 10 (2011) 188-95.
- Roy A. "Early probe and drug discovery in academia: a minireview". *High-Throughput* 7 (2018) 4-17.
- Paul SM cols. "How to improve R&D productivity: the pharmaceutical industry's grand challenge". *Nature Reviews Drug Discovery* 9 (2010) 203-14.