

La innovación farmacéutica

CARMEN AVENDAÑO

*Departamento de Química Orgánica y Farmacéutica.
Facultad de Farmacia. Universidad Complutense, Madrid*

1. CONSIDERACIONES ACERCA DE LOS PROBLEMAS Y SOLUCIONES QUE AFECTAN A LA INNOVACIÓN FARMACÉUTICA

A partir de 1850, la ciencia ha sido el motor del progreso de la técnica, y la tecnología el apoyo de **la innovación**. Ésta ha dejado de ser un fenómeno marginal en la economía moderna para ser esencial en la dinámica industrial y en el desarrollo de cualquier nación. Hay que resaltar que, en una economía de mercado, la innovación es un fenómeno básicamente empresarial aunque otros agentes fundamentalmente estatales puedan facilitarla o, incluso, catalizarla.

Muchas industrias farmacéuticas parecen atravesar momentos difíciles tras varios años de grandes beneficios. El factor principal que está implicado en este proceso es la competencia de los **genéricos** promovida por los gobiernos para controlar los precios tras la caducidad de los derechos que protegen las patentes. Pero también es preocupante la **falta de nuevos fármacos** que sean realmente **relevantes**, es decir, que supongan avances importantes en el tratamiento de las enfermedades.

Estas circunstancias se juxtaponen a la **descorazonadora realidad de los números**, ya que suele admitirse que sólo la mitad de los proyectos de I+D que se inician en una empresa farmacéutica acaban con la selección de algún candidato a fármaco, sólo un 20% de estos candidatos se desarrollan, y sólo un 10% de este 20% se comercializan, lo que da

como resultado que sólo un 1% de las ideas alcanza el éxito, con el agravante de que el desarrollo de muchos compuestos se frena en las últimas fases de la investigación. Según el informe anual correspondiente al 2003 de la patronal farmacéutica estadounidense (PhRMA) la relación de éxitos/candidatos es aún menor: de cada 5000 nuevas moléculas seleccionadas 250 alcanzan los estudios preclínicos de las que sólo 5 pasan a ensayos clínicos y una se aprueba por la FDA.

Resulta evidente que **la innovación farmacéutica tiene problemas de productividad**. Por ejemplo, la inversión anual en I+D de la Industria Farmacéutica americana pasó de 2.000 millones de dólares en 1980 a 32.000 en el año 2002, mientras que el número de nuevos fármacos registrados cada año en este periodo permaneció constante. ¿Cuáles son las causas de este estado de cosas? En gran medida se debe a que las **reglamentaciones** para aprobar un nuevo producto son **cada vez más estrictas**, a que las **enfermedades** a las que se dirige la innovación son **más difíciles de tratar**, a que la **innovación biológica** ha sido impactante pero **se necesita trasvasar** esta ingente cantidad de conocimiento para diseñar nuevas entidades con actividad terapéutica y, también, a la necesidad de **prestar más atención a la innovación química** [1-3].

La industria farmacéutica se basaba hasta los años 80 en el «**modelo aspirina**», desarrollando productos baratos y de gran consumo para el tratamiento sintomático de diversas patologías, mientras que los fármacos surgidos de un largo proceso de investigación y con una carga innovadora notable eran escasos. Por el contrario, las grandes compañías necesitan invertir actualmente ingentes cantidades de dinero en el desarrollo de fármacos innovadores que permitan el tratamiento de enfermedades crónicas, siendo el riesgo mucho mayor. Ahora bien, si no se asume este riesgo, la empresa puede ser absorbida o perecer.

Este cambio de estrategia se produce de forma no programada cuando el antiguo modelo deja de ser productivo, como ocurrió con las primitivas aproximaciones a los fármacos antitumorales, o cuando se aprecian los beneficios económicos que pueden alcanzarse con un fármaco verdaderamente innovador, como fue la **ciclosporina A**. Los analistas económicos han atribuido a esta molécula, un potente inmunosupresor descubierto en 1972 como consecuencia de un programa de cribado que buscaba compuestos antimicrobianos, el enorme crecimiento experimentado

en los años noventa por la compañía suiza **Sandoz** (que después sería parte de **Novartis**). Este fármaco apareció en un momento clave para generalizar el transplante de órganos en todo el mundo.

Algo semejante sucedió con SK&F con el lazamiento en 1987 del primer antagonista H_2 : Tagamet® (cimetidina). Este fármaco antiúlceras transformó a la compañía en otra de gran éxito: SmithKline Beecham. Análogamente, otro antagonista H_2 : Zantac® (ranitidina) que se lanzó al mercado 5 años más tarde, permitió a la empresa Glaxo adquirir Wellcome.

En cuanto al desarrollo de fármacos antitumorales, es de justicia señalar que al firmar Richard Nixon la «National Cancer Act» en 1973, se produjo una declaración de guerra al cáncer que concentró enormes recursos y ha salvado millones de vidas. Los NIH (Institutos Nacionales de Salud) tenían como objetivo prioritario solucionar el problema del cáncer y, al mismo tiempo, se impulsó un acercamiento entre los organismos públicos de investigación y las empresas farmacéuticas estadounidenses [4,5]. A pesar de estos esfuerzos el premio Nobel de Medicina Harold Varmus, que fue uno de los protagonistas, reconocía diez años más tarde cómo, a pesar de los varios miles de millones de dólares invertidos, el arsenal terapéutico disponible continuaba siendo eminentemente paliativo. Este arsenal se compone de cócteles de fármacos citotóxicos, entre los que se incluyen paclitaxel, vinblastina o daunomicina, que atacan sin distinción a las células que se dividen, afectando principalmente a los tumores porque éstos tienden a dividirse más rápidamente. Por tanto, tienen efectos secundarios muy importantes en otras células que se renuevan también rápidamente. Según Varmus, se había seguido una estrategia equivocada: dirigir los trabajos a una investigación aplicada sin conocer exactamente las claves de la enfermedad.

Este impulso permitió que las compañías farmacéuticas apreciaran la rentabilidad a largo plazo y que se estudiara **la célula hasta sus últimas consecuencias**, identificándose los elementos que intervienen en el ciclo celular. Con este cambio de estrategia las empresas pudieron recuperar parte de sus inversiones y en una docena de años **las formas de cáncer de mayor incidencia** cuentan con fármacos muy específicos y con otros, aun imperfectos, que poseen una eficacia variable. El Profesor Díaz Rubio analiza extensamente en esta monografía las nuevas dianas en el tratamiento del cáncer.

Animadas por el reenfoque de la investigación en cáncer y por el proyecto genoma, muchas empresas dirigieron sus expectativas de negocio a otras enfermedades sin tratamiento específico entre las llamadas «**rentables**»: cardiovasculares, neurodegenerativas, metabólicas o infecciosas. En consecuencia, los costes de investigación de fármacos se han disparado (la mayor inversión corresponde especialmente a los ensayos clínicos), a pesar de que se ha reducido entre dos y cuatro años el tiempo de su desarrollo respecto a los 14 años que era el promedio en 1997.

En la actualidad, las probabilidades de éxito pueden ser mayores gracias al desarrollo de la genómica y la proteómica pero, como ya se ha comentado, continúan siendo bajas. Los últimos datos respecto al coste de desarrollo de un nuevo medicamento muestran que ha pasado de 138 millones de dólares en 1975 a 802 millones en el año 2000, y la inversión en I+D de la industria farmacéutica norteamericana ha aumentado desde los 29.700 millones de dólares invertidos en el año 2001 a los 32.000 millones invertidos en el 2002. Además, debido al control de los precios por los distintos gobiernos, sólo 3 de cada 10 fármacos comercializados producen beneficios que igualan o superan el coste medio de I+D.

En otro orden de cosas, todavía no se ha confirmado que las **fusiones** de grandes empresas originen una mayor productividad innovadora, aunque éstas se han producido últimamente a una escala que hace años hubiera resultado impensable. Pfizer, que ya era líder mundial entre las empresas farmacéuticas, se ha distanciado todavía más de GlaxoSmith-Kline y de Merck, que ocupaban los puestos segundo y tercero, tras su fusión con Pharmacia. Por cierto, esta última empresa era una modesta farmacia de Estocolmo en los años 1940s y fundamentó su fuerza en la innovación de la instrumentación y de la química analítica que emanaban de la Universidad de Uppsala.

La **empresa Pfizer** merece algunos comentarios en relación con el mantenimiento de una innovación sostenida. Por ejemplo, cuando no había suficiente cantidad de limones para fabricar ácido cítrico durante la Primera Guerra Mundial, desarrolló la tecnología adecuada para fabricar dicho ácido por fermentación a partir del azúcar, y fue esta tecnología la que le permitió liderar la **producción de penicilina** en los años 40. En los años 50 desarrolló la **terramicina**, uno de los antibióticos de amplio espectro, mientras que en los años 60 y 70 sus productos más importan-

tes fueron el antidiabético **Diabinese®**, **Minipress®** para la terapia cardiovascular, y el medicamento dirigido al SNC **Sinequan®**. En los años 80 desarrolló el antiinflamatorio **Feldene®**, el antifúngico **Diflucan®** (uno de los productos «bandera» de esta compañía desde el punto de vista científico y económico cuya patente expira en el 2004), y el cardiovascular **Procardia XL®**. En los 90 lanzó **Cardura®** (cardiovascular), **Glucotrol XL®** (diabetes), **Norvase®** (cardiovascular), **Zithromax®** (antibiótico), **Zoloft®** (un antidepresivo que tuvo que luchar muy duramente para competir con Prozac® de Lilly que ya era líder mundial) y, finalmente, **Viagra®** (disfunción eréctil).

Un informe reciente de la consultora Datamonitor concluye que, tras la reorganización que ha originado la fusión de Pfizer y Pharmacia, pocas compañías disponen de los medios suficientes para mantener su independencia en un plazo de cinco años teniendo en cuenta su productividad en I+D, la expiración de patentes y la cada vez menor confianza de los inversores. El potencial de cinco compañías —AstraZéneca, Bristol-Myers Squibb, Eli Lilly, GlaxoSmithKline y Wyeth— para mantener su ritmo de crecimiento e independencia durante los próximos seis años, sugiere que Eli Lilly y AstraZéneca son las mejor situadas. Lilly tendrá que superar el vencimiento de la patente de **Prozac®**, cuyo principal impacto en la compañía se ha producido ya entre 2001 y 2002, pero cuenta con una cartera innovadora que encabeza el antipsicótico **Zyprexa®** mientras que en AstraZéneca la amenaza de genéricos está compensada con productos innovadores como **Crestor®** e **Iressa®**. Este último se comentará más adelante.

También se han multiplicado las **alianzas** de las grandes compañías farmacéuticas **con pequeñas empresas y grupos de investigación de carácter público** a fin de aumentar su capacidad científica y tecnológica, ya que para la innovación farmacéutica es imprescindible avanzar en los conocimientos acerca de cómo se desarrollan y funcionan muchas enfermedades, algunas muy complejas. El final del proyecto acerca del genoma humano ha creado mayores oportunidades para el descubrimiento de fármacos en todas las enfermedades y la **farmacogenómica**, al permitir que los fármacos se dirijan a dianas más específicas, intenta aumentar la productividad de la innovación y conseguir compuestos con menos efectos secundarios [6-8].

El conocimiento de nuevas dianas terapéuticas permite además de encontrar nuevos fármacos desarrollar **nuevas indicaciones** para viejos fármacos, como es el caso de la **memantina (Ebixa®)**, un fármaco para el tratamiento del Parkinson de Merz Pharmaceuticals que, recientemente, se ha aprobado para el Alzheimer por ser antagonista no competitivo de los receptores NMD de ácido glutámico.

La innovación se dirige también en algunos casos al desarrollo de **nuevas formas de administración**, ya que son muy convenientes los fármacos que pueden administrarse por vía oral y requieran, como máximo, una dosis diaria para facilitar el cumplimiento de los tratamientos.

A su vez, **muchas de estas pequeñas empresas farmacéuticas no podrían subsistir sin aliarse con una gran empresa**, puesto que dirigen su esfuerzo a un único proyecto innovador pero carecen de capacidad para desarrollarlo, especialmente en lo concerniente a los procesos de fabricación del fármaco, sus ensayos preclínicos y clínicos, el control de todos los procesos, y la preparación de la documentación necesaria para su aprobación.

Es frecuente que la innovación farmacéutica se apoye en **empresas especializadas en el desarrollo de procesos de síntesis de APIs («Active Pharmaceutical Ingredients»)**. Sus clientes pueden ser compañías que se encuentran en una fase de actividad incipiente o grandes empresas que requieren urgentemente cantidades de producto para llevar a cabo los ensayos clínicos y prefieren contratar este trabajo a otras más especializadas. Y es que los **problemas del escalado de un proceso de síntesis** pueden a veces resultar complejos, ya que la producción de fármacos a gran escala se realiza normalmente con métodos muy diferentes a los empleados en la síntesis realizada en el laboratorio debido a la necesidad de eliminar disolventes peligrosos y purificaciones cromatográficas o, simplemente, porque incluyen determinados pasos que no se reproducen a grandes escalas.

Gracias a una asociación de este tipo, se ha aprobado y comercializado el anticolesterolémico **WelChol® (colesevelam)**, un polímero complejo con capacidad para enlazarse a los ácidos biliares y eliminarlos del torrente circulatorio obligando al hígado a secuestrar el colesterol sanguíneo para reemplazarlos. Su descubrimiento tuvo lugar en una pequeña empresa llamada GelTex, pero el escalado de su síntesis para dispo-

ner de cantidades importantes requirió la experiencia de una gran compañía como DSM Pharma Chemicals.

Otro ejemplo es la **verteporfina**, que es el principio activo de **Visudine®**, un medicamento comercializado por Novartis para el tratamiento de la degeneración macular. Tras su administración en forma inyectable se transporta por las lipoproteínas de la sangre hasta el ojo donde, tras la irradiación con láser, libera oxígeno singlete destruyendo las células que forman los vasos sanguíneos anormales (ver más adelante con algo más de detalle el significado de la **terapia fotodinámica** aplicada a la lucha anticancerosa). Este procedimiento se descubrió a principios de los años 90 en una empresa canadiense, que por aquel entonces era prácticamente una empresa virtual, y estaba liderado por una inmunóloga cuya madre había perdido la vista por esta causa. La preparación de cantidades suficientes cuando se iniciaron los ensayos clínicos en 1993 hasta que se aprobó en 1999 fue posible gracias a un contrato de dicha empresa con Raylo.

Un tercer ejemplo lo tenemos en el desarrollo de **Ranexa™ (ranolazina)**, un derivado de piperazina cuya actividad antianginosa se debe en parte a su capacidad para inhibir la oxidación de los ácidos grasos, lo que supone una innovación en este tratamiento. Fue descubierto por una pequeña compañía que sólo se dirige al tratamiento de las enfermedades cardiovasculares (CV Therapeutics), pero su escalado y fabricación para su posible comercialización si finalmente se aprueba ha sido posible con la colaboración de la empresa Dow.

También las grandes empresas pueden estar interesadas en contratar empresas más pequeñas que están especializadas en el rápido desarrollo de procesos de síntesis para facilitar los estudios clínicos de sus nuevos fármacos. Una de estas empresas es Tetrionics, fundada en 1989 por expertos en la química de la vitamina D de la Universidad de Wisconsin. Ha colaborado desde 1990 con la gran empresa Abbott para el escalado y la producción en un proceso sintético de 27 pasos del análogo de la vitamina D **paracalcitol (Zemplar®)**, que desde su aprobación en 1998 se utiliza en el tratamiento del hiperparatiroidismo.

Otras empresas son expertas en la química de los **compuestos fluorados**, en las técnicas de **polimorfismo**, en la **catálisis asimétrica** e, incluso, en la **cristalización de APIs**.

Dado que los gobiernos son los principales clientes de las empresas farmacéuticas, la innovación farmacéutica se enfrenta a la relación **coste/eficacia**. Así, un estudio de los costes del tratamiento anual de pacientes con hepatitis C utilizando **interferón α -2b (Introna®)** o **interferón α -2b pegilado (Pegintrón®)**, sólo o en combinación con **ribavirina**, concluyó que las ventajas del interferón pegilado sobre el no pegilado son demasiado pequeñas si se comparan los costes de ambos medicamentos [9].

Pegintrón® es una innovación tecnológica que permite la incorporación de interferón en liposomas estables metabólicamente y carentes de rechazo inmunológico, gracias a las cadenas de polietilenglicol (**PEG**) de su cubierta.

Una empresa farmacéutica de primera línea debe vivir impulsando la innovación a través de una adecuada organización dirigida al estímulo del desarrollo creativo [10]. Sin embargo, la suerte juega un papel muy importante, siendo frecuente que un fármaco que estaba dirigido en principio al tratamiento de un proceso determinado y ha encontrado dificultades, acabe teniendo una aplicación distinta (caso, por ejemplo, del sildenafil).

Las administraciones públicas de todos los países avanzados, y actualmente en nuestro entorno la Comunidad Europea, apoyan los procesos de innovación con subvenciones, créditos blandos, normas de política fiscal, difusión y transferencia de resultados. En **el caso español**, la Dirección de Política Tecnológica, a través del plan «**Acción Profarma**», se ha encargado desde hace unos años de diseñar estrategias para fomentar la investigación e implantar nuevas tecnologías en el sector farmacéutico [11, 12]. En contrapartida, se pueden acelerar los registros en la medida de lo posible y participar en distintos programas, como es el caso del programa «Profit».

Además de la cofinanciación de proyectos por parte de organismos públicos internacionales, nacionales o regionales, existen Fundaciones, organismos para fomentar la interacción Universidad-Empresa y otras instituciones que deben potenciarse cada vez más.

La innovación farmacéutica requiere conocimientos muy difíciles de clasificar, dependiendo el éxito de un **capital humano** adecuado, de una clara **determinación de objetivos**, y de la existencia de **inversores dispuestos a asumir los riesgos** que supone intentar comercializar un

descubrimiento, una actitud poco frecuente en España y en general en Europa, que se encuentra en desventaja frente a Estados Unidos o Japón, fundamentalmente en el sector de la Biotecnología.

España tiene un problema adicional respecto a la mayoría de los países europeos, ya que la proporción entre el número de investigadores que trabaja en el **sistema público de I+D** y en la empresa es aproximadamente de 4:1, mientras que en dichos países casi la mitad de los investigadores desarrolla su investigación en el **sector privado**.

Sin embargo, aún constatando estas características negativas de nuestro país al mismo tiempo que su débil tejido industrial, se ha demostrado a lo largo de los últimos años la capacidad para introducir desde aquí fármacos innovadores y para ser el mayor productor mundial de otros, como es el caso de la fábrica de antibióticos β -lactámicos DSM Deretil en Villaricos (Almería) y de aspirina Bayer en La Felguera (Asturias).

2. LA INNOVACIÓN FARMACÉUTICA A LO LARGO DEL SIGLO XX

La **innovación farmacéutica** ha sido decisiva para la humanidad a lo largo del siglo XX, habiéndose producido como consecuencia de una conjunción de descubrimientos biológicos y médicos, del hallazgo de estructuras naturales activas, del desarrollo de modelos adecuados para el estudio farmacológico, de la ampliación de objetivos de la síntesis química, de la aplicación de nuevas tecnologías y, particularmente en los últimos años, de los avances de la biotecnología. Baste decir que, como consecuencia de una mejor calidad de vida, del desarrollo de la medicina y, con ella, de muchos fármacos innovadores, la esperanza de vida ha pasado de 47 años en 1900 a 77 años o más en la actualidad.

Las primeras enfermedades que se combatieron eficazmente con fármacos (denominados en general quimioterápicos) fueron las infecciosas. Gracias a Louis Pasteur y Robert Koch, que determinaron cómo algunos gérmenes son causantes de muchas de ellas, se abrieron paso las **vacunas** desde finales del siglo XIX, y Paul Ehrlich desarrolló por manipulación molecular de compuestos de arsénico el primer antisifilítico eficaz hasta la comercialización de la penicilina: el **salvarsán**.

En 1933 Gerhard Domagk, que trabajaba en la empresa química alemana I.G. Farben, encontró que el colorante rojo-anaranjado **prontosil rubrum** mataba a las bacterias que infectaban a ratones de laboratorio. Su metabolito activo fue el origen de las **sulfamidas**. Sin embargo, el gran descubrimiento dentro de los fármacos antiinfecciosos fue la **penicilina**, descubierta en 1928 por Sir Alexander Fleming, desarrollada posteriormente por Howard Florey y Ernst Chain y producida industrialmente en 1943. A ella le siguieron muchos otros antibióticos [13, 14].

En cuanto a los fármacos que regulan funciones fisiológicas o minimizan los efectos de una función desregulada (denominados farmacodinámicos), debemos comenzar por Felix Hoffman, que en 1910 (trabajando para la compañía alemana Bayer) desarrolló la **aspirina** por manipulación de la estructura del ácido salicílico, un compuesto aislado de la corteza de sauce que había mostrado propiedades analgésicas.

El 1921 Frederick Banting, un científico de la Universidad de Toronto que estaba en relación con la compañía farmacéutica norteamericana Lilly, logró aislar la **insulina**, una tarea en la que habían fracasado muchos investigadores desde que a finales del siglo XIX se relacionara la diabetes con un mal funcionamiento del páncreas. La citada empresa compró los derechos para producirla a gran escala, y desarrolló la tecnología necesaria para introducirla en el mercado en 1923.

En cuanto a las enfermedades cardíacas, ya en 1799 John Ferrier había descubierto que las hojas secas de **digital** estimulan las contracciones del corazón y aumentan la sangre bombeada en cada latido. Desde 1897 se utilizó en la angina un ingrediente de la dinamita, la **nitroglicerina**, y en 1901, se empezó a utilizar para estimular el corazón la **adrenalina**, un compuesto que se había aislado de ciertas glándulas animales. En 1949 se divulgó que la raíz pulverizada de la planta tropical *Rauwolfia serpentina* se utilizaba en la India para bajar la presión sanguínea, aislándose su principio activo, la **reserpina**, tres años después. El primer **diurético** utilizado para este mismo propósito se aprobó en 1950, y el primer **β -bloqueante** se comercializó en 1967. El primer **inhibidor de ECA** y el primer **bloqueante de canales de Ca^{2+}** se aprobaron en 1981. Los fármacos **anticoagulantes** surgieron también en los años 80. La primera **estatina**, inhibidora de una de las enzimas implicadas en la biosíntesis del colesterol aplicable a patologías de las coronarias, se aprobó en 1987, después lle-

garon los antagonistas de angiotensina II, los de endotelina y los inhibidores de renina. Actualmente, son más de un centenar los medicamentos innovadores que se están desarrollando para enfermedades cardiovasculares, procediendo alguno de ellos de la aplicación de nuevas tecnologías.

Siendo estas innovaciones farmacéuticas relevantes, es quizás más espectacular el cambio que los fármacos han propiciado desde 1950 en las llamadas enfermedades mentales que, anteriormente, producían miedo y vergüenza, mientras que hoy se manejan con bastante facilidad. Este cambio comenzó con la introducción de la **clorpromazina** para el tratamiento de la psicosis. También la **fluoxetina**, el primer inhibidor de la recaptación de serotonina selectivo (que se introdujo en 1987), revolucionó el tratamiento de la depresión.

Otro hito en la innovación farmacéutica ha sido el hallazgo de los **fármacos inmunosupresores**, que permitieron el éxito de los transplantes de órganos, encabezados por la ya comentada **ciclosporina**.

En lo que respecta al **SIDA**, una terrible plaga de la humanidad en la última parte del siglo, hay que destacar cómo ha avanzado su tratamiento en un tiempo récord. Cuatro años después de que en 1983 se identificara el virus VIH-1 causante de esta enfermedad, se aprobó el primer inhibidor de la enzima transcriptasa inversa: el **zidovudir**, y en 1995 se introdujo el **saquinavir**, que fue el primer inhibidor de la proteasa VIH-1. Los tratamientos combinados de estos dos tipos de fármacos han reducido la mortalidad en un 70%, y desde principios del 2003 se comercializa en EEUU **T-20 (efuvirtide, Fuzeon®)**, un inhibidor de fusión desarrollado por el laboratorio Trimeris, Inc. y Hoffman-LaRoche, que es consecuencia del descubrimiento en 1996 de los receptores de las células CD4 y de cómo el VIH logra entrar e infectar estas células.

Efuvirtide se une a una proteína de la superficie del virus llamada proteína gp41, impidiendo que éste pueda adherirse a la superficie de las células CD4. Debido a su estructura peptídica, no puede administrarse por vía oral, sino por inyección subcutánea utilizando jeringuillas similares a las de insulina. Su estructura determinó también la alianza de Trimeris con Hoffman-LaRoche por la experiencia de esta última empresa en la síntesis de péptidos y proteínas. Otros fármacos anti VIH-1 que también están en estudio clínico muy avanzado son dos inhibidores de integrasa que están siendo desarrollados por Merk y GSK.

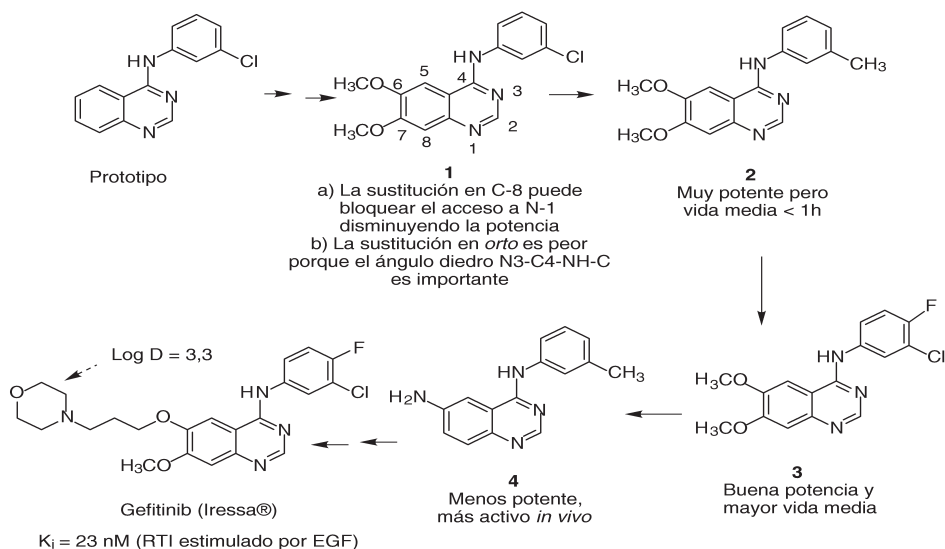
En cambio, el **cáncer** es uno de los problemas peor resueltos por la administración de medicamentos, si bien hoy se producen menos fallecimientos que hace 10 años y ciertos tumores tienen mucho mejor pronóstico. El **metotrexato**, que se desarrolló en 1948 por los Laboratorios Lederle, fue el primer antimetabolito útil como anticanceroso, al que siguieron muchos otros agentes citotóxicos. De todos los fármacos antitumorales que se han ido comercializando, hay que destacar a **paclitaxel**, un producto natural que desde su introducción en 1994 supuso un gran progreso en el cáncer de mama y de ovario, entre otros, aunque la situación sigue siendo desoladora. En el año 2000, desarrollaron un tumor maligno 5,3 millones de hombres y 4,7 millones de mujeres, y murieron de esta enfermedad 6,2 millones de personas. Además, la Organización Mundial de la Salud calcula un crecimiento en el número de afectados en los próximos años, de forma que en el 2020 se alcanzará la cifra de 15 millones de enfermos de cáncer.

Ya hemos comentado que en los últimos años se ha optado por abordar **la terapia del cáncer con compuestos más selectivos** y, por tanto, menos tóxicos. Debido a que el crecimiento incontrolado de las células tumorales está relacionado muchas veces con una señal de transducción inapropiada, han surgido muchos antitumorales que tienen como diana a los **receptores del factor de crecimiento epidérmico** (EGF = «Epidermal Growth Factor») o a una determinada **quinasa**, de las que se conocen más de 2000 en el hombre. Las quinasas, también denominadas cinasas por su acción «movilizante», son enzimas que al facilitar la fosforilación de proteínas actúan como señales de transducción. A pesar de la dificultad que presenta «a priori» encontrar inhibidores de quinasas selectivos que se unan al mismo lugar (o a lugares complementarios) que el ATP, que es el agente fosforilante, algunos antitumorales selectivos actúan de esta manera, y han surgido gracias al hallazgo de prototipos por los métodos de cribado al azar de alto rendimiento («**HTS methods**»).

Como ejemplo de las circunstancias que rodean la aprobación del registro de fármacos, comentaremos el caso del antitumoral **Gefitinib (Iressa®)**, de AstraZeneca), recientemente aprobado por la FDA. Su desarrollo a partir de un prototipo de estructura 4-(3-clorofenilamino)quinazolina se resume en el Esquema 1 [15]. La manipulación estructural de este prototipo permitió descubrir, entre otras cosas, la importancia del ángulo die-

dro formado por los átomos N3-C4-NH-C(arilo), a fin de que el sustituyente fenilamino se disponga en una conformación que optimice su interacción con el subsitio complementario de la diana farmacológica. También se refleja en el Esquema la importancia de la biodisponibilidad y de cómo puede conjugarse este aspecto con la potencia. Gefitinib inhibe una tirosina quinasa que forma parte del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR). Dicha inhibición bloquea las rutas de señalización que están implicadas en el crecimiento y supervivencia de las células cancerígenas (ver también el Apartado 4). Es eficaz por vía oral en el cáncer de pulmón no microcítico (CPNM), y también ha mostrado actividad antitumoral en el cáncer de mama avanzado.

Gefitinib se autorizó en Japón en julio de 2002 para el tratamiento del CPNM inoperable o recurrente, pero su «carrera» no ha estado exenta de dificultades. A finales de septiembre del 2002, en una de las sedes de la FDA, un grupo de pacientes con cáncer de pulmón expuso delante de un comité de expertos de este organismo sus razones para solicitar que Iressa® no fuera rechazado, como era previsible por la necesidad de aportar más datos clínicos. Estos testimonios, contra todo pronóstico, modi-



ESQUEMA 1

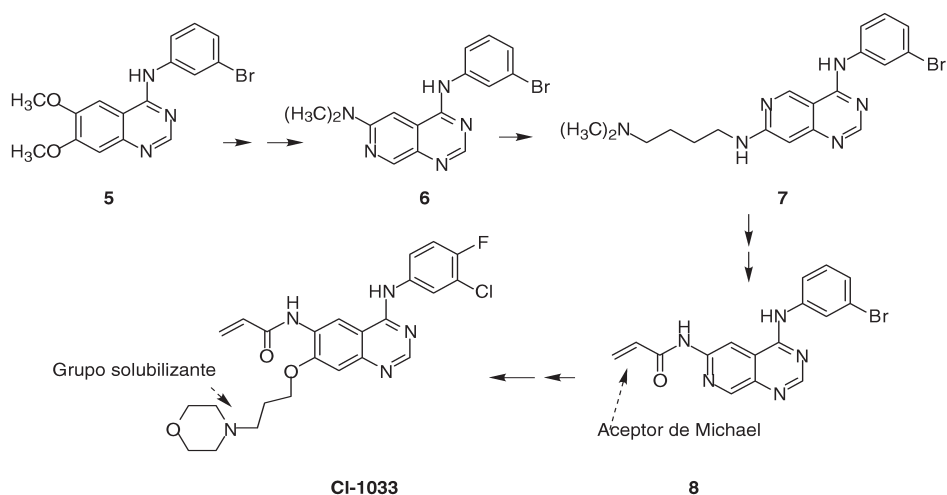
ficaron el sentido del voto de la mayoría de los ponentes, que propusieron su aprobación acelerada al no existir ningún fármaco para esta situación. Resulta bastante paradójico que, al mismo tiempo, el Ministerio de Salud de Japón hiciera públicos los informes de 81 muertes de pacientes con cáncer vinculadas aparentemente a Iressa®.

Otro ejemplo lo encontramos en **Parke-Davis** [16] que descubrió cómo la anilinoquinazolina **5** (obsérvese su analogía con la estructura **1** precursora de gefitinib) antagonizaba receptores EGF (algunos de cuyos representantes se denominan erbB) a una concentración 14 nM (Esquema 2). Como dicho compuesto era inactivo *in vivo*, la firma obtuvo el análogo **6**, que inhibía el crecimiento tumoral pero era insoluble, mientras que el compuesto **7**, más soluble, era mucho menos potente. Dado que estos receptores poseen un residuo de cisteína cuyo grupo SH interviene en la formación de enlaces de hidrógeno con los ligandos, se diseñaron estructuras que tuvieran un grupo aceptor de Michael, a fin de obtener inhibidores irreversibles mediante la adición de dicho grupo SH.

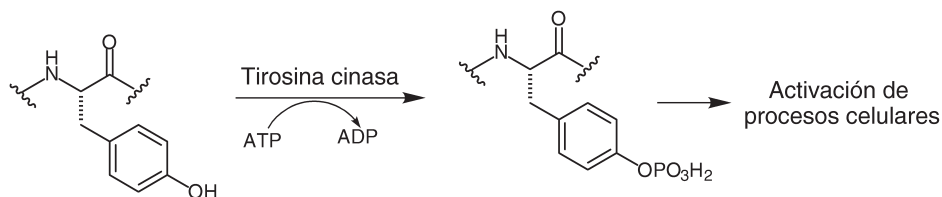
Se obtuvo así el compuesto **8** y, finalmente, el compuesto **CI-1033**, más soluble y con excelente potencia frente a varios receptores erbB. Dicho producto está en ensayos clínicos.

Un tercer ejemplo de gran éxito ha sido **Imatinib** (**Glivec®** de Novartis). Es el primer antitumoral comercializado que está dirigido a una diana asociada a una mutación genética que existe en el 95% de los casos del trastorno hematopoyético denominado leucemia mieloide crónica. Esta mutación se caracteriza por la existencia de una quinasa Abl superactivada dependiente de ATP, que está expresada por el cromosoma de Filadelfia y fosforila grupos hidroxilo de tirosina [17-19]. El cromosoma de Filadelfia se origina por una traslocación del oncogen c-Abl del cromosoma 9 que se yuxtapone con secuencias del cromosoma 22 (c-Bcr).

Por cribado al azar de alto rendimiento (HTSM), en el que se estudió la afinidad por diferentes quinastas de varios compuestos previamente sintetizados en la empresa Ciba-Geigy (hoy Novartis), surgió el prototipo 2-fenilaminopirimidina que se indica en el Esquema 3 (obsérvese de nuevo su analogía con el de gefitinib). Éste tenía baja actividad y poca

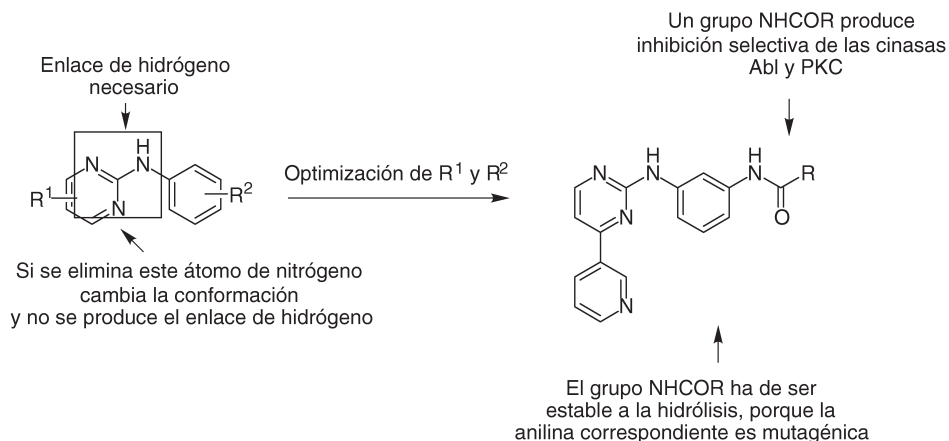


ESQUEMA 2



selectividad, pero era fácilmente manipulable por introducción de sustituyentes en ambos anillos. Al sintetizar varios análogos, se observó que el agrupamiento de guanidina que se ha recuadrado era imprescindible para la actividad, y se supuso que debía estar implicado en enlaces de hidrógeno con la enzima. Los mejores sustituyentes R^1 y R^2 para aumentar la afinidad por la proteína quinasa C (PKC) y la quinasa Abl (la diana farmacológica deseada en este caso) fueron 3-piridilo y acilamino, pero este último debía ser un derivado estable a la hidrólisis, porque las anilinas resultantes de ésta eran mutagénicas.

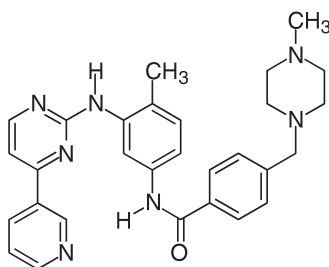
Cuando se introdujo un grupo metilo en la posición *orto* del grupo fenilo se observó que, debido a que dicho grupo impide la libre rotación del enlace NH-fenilo, el compuesto adopta una conformación afín por la



ESQUEMA 3

quinasa Abl. Finalmente, se introdujo un grupo solubilizante de tipo dialquilaminoalquilo y se llegó al imatinib.

La inhibición de quinastas también se dirige actualmente al tratamiento de enfermedades autoinmunes, como la artritis reumatoide o la osteoartritis. Uno de estos fármacos es **VX-745**, actualmente en ensayos clíni-

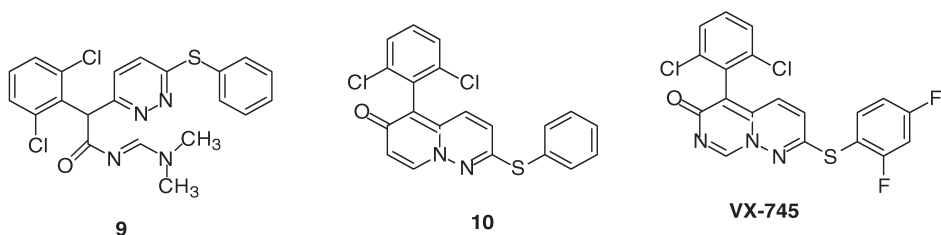


Imatinib

cos, que está siendo desarrollado por Vertex y Aventis [20]. **VX-745** es un inhibidor de una MAP-quinasa activada por p-38 (las MAP-quinastas son enzimas fosforilantes que se activan por mitógenos). La inhibición de esta MAP-quinasa, puede detener la producción de factores de inflamación IL-1 β y TNF- α .

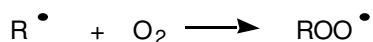
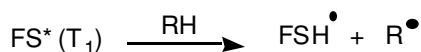
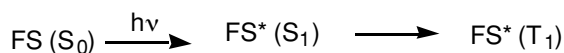
En Vertex Pharmaceuticals se encontró por cribado de alto rendimiento un «hit» que dio lugar al prototipo **9**. Éste se convirtió en el molde **10**, y sobre él se estudiaron diferentes sustituciones, en concreto, la modificación del resto feniltio para darle una mayor estabilidad metabólica. Se llegó así al compuesto **VX-745**, que fue activo *in vivo* en los modelos animales de artrosis y puede ser administrado por vía oral a humanos.

Se están desarrollando también otros fármacos innovadores en la terapia anticancerosa, entre los que destacan los que tienen como objetivo

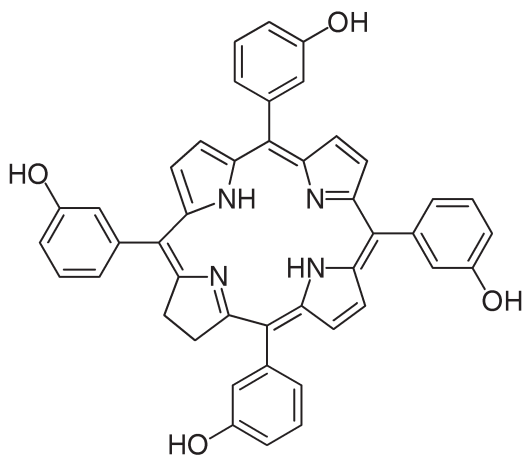


la **inhibición de la angiogénesis**, pero dado el carácter general que se pretende en estas reflexiones, vamos a comentar cómo puede conseguirse una citotoxicidad selectiva con la **terapia fotodinámica** (ver anteriormente la **verteporfina**) que ha resurgido a partir de los primeros años 90 con la aparición de muchos **fotosensibilizantes** y el desarrollo de los láseres de diodo y de las fibras ópticas por empresas como Biolitec AG.

Cuando se inyecta por vía intravenosa un agente fotosensibilizante inactivo en la oscuridad, éste tiende a concentrarse en las lesiones neoplásicas y puede utilizarse como herramienta de diagnóstico observando la emisión de fluorescencia cuando se irradian. Pero si se plantea como un profármaco antitumoral es porque pueden también generar especies citotóxicas [21]. Cuando el agente fotosensibilizante absorbe energía radiante ($h\nu$) en la región del rojo (650-800 nm) en la que los tejidos son más transparentes, pasa de su estado fundamental (S_0) a un nivel de energía superior (S_1), que puede transformarse en un estado triplete (T_1) fotoactivo, con una vida media algo mayor que el estado singlete. En dicho estado puede reaccionar con un sustrato originando radicales libres (ver las siguientes ecuaciones) o iones que, a su vez, pueden reaccionar con oxígeno molecular dando productos citotóxicos.



Entre los fotosensibilizantes de interés se encuentran las **clorinas** (porfirinas en las que se ha reducido un doble enlace) y las bacterioclorinas (que tienen reducidos dos dobles enlaces opuestos). La ***m*-THPC** o **Foscan®** (5,10,15,20-tetrakis-*m*-hidroxifenilclorina) ha sido una de las clorinas más estudiadas [22]. Por su naturaleza anfifílica (lipófila e hidrófila), *m*-THPC se localiza preferentemente en la bicapa lipídica de la membrana de las mitocondrias y en los lisosomas. Foscan® se activa por la luz roja que emite un láser y se utiliza para eliminar los carcinomas de células escamosas en cabeza y cuello y otros tumores de la cavidad bucal cuando la radioterapia convencional, la cirugía o la quimioterapia no son adecuadas [23].

*m*-THPC

3. METODOLOGÍAS ACTUALES APLICADAS A LA INNOVACIÓN FARMACÉUTICA. CRIBADO DE ALTO RENDIMIENTO, QUÍMICA COMBINATORIA, VALIDACIÓN DE DIANAS FARMACOLÓGICAS, BIOINFORMÁTICA, NANOTECNOLOGÍA, TECNOLOGÍAS IN SILICO

En los últimos años se han identificado nuevos prototipos o «**hits**» por cribado de alto rendimiento (**HTS**, «High Throughput Screening») de las grandes colecciones de compuestos sintetizados a través de muchos años en una compañía u obtenidos por nuevas tecnologías de síntesis, como son la **química combinatoria** o la **síntesis en paralelo**. Estas últimas, proceden de una nueva forma de purificar los productos de una reacción que se descubrió hace aproximadamente 40 años ante las dificultades que entrañaba la síntesis de péptidos: la **síntesis en fase sólida**.

Estas metodologías permiten obtener colecciones, denominadas bibliotecas de compuestos, formadas por un gran número de análogos en un tiempo mucho menor que si se aplica la síntesis tradicional, en la que cada paso origina un solo compuesto. Estas **bibliotecas de compuestos** pueden estar dirigidas a dianas farmacológicas prefijadas, aunque muy habitualmente están orientadas a obtener diversidad estructural a fin de identificar nuevas dianas terapéuticas. En esta última orientación, el método HTS permite determinar actividades biológicas de forma automatizada con mínimas cantidades de producto en muy corto espacio de tiempo [24-26].

La **síntesis orientada a una determinada diana farmacológica** tiene una larga historia, aunque una orientación diferente en las universidades y en las compañías farmacéuticas. En aquéllas suele dirigirse a los productos naturales y en éstas a los fármacos o candidatos a fármacos [27]. El **análisis retrosintético**, es decir, el reconocimiento de cuáles son los elementos estructurales que codifican las transformaciones sintéticas que se pretenden, es la base de la síntesis orientada que viene utilizándose para la preparación de muchos compuestos de gran valor en medicina y biología, como ocurre con un análogo de ecteinascidina-743 con potencial utilidad como antitumoral, la ftalascidina [28].

Dicho análisis también es imprescindible en el diseño de «**bibliotecas enfocadas**» de compuestos con circunstancias estructurales comunes

que facilitan el enlace a una determinada proteína que se ha seleccionado como diana farmacológica [29].

Sin embargo, el análisis retrosintético no se utiliza directamente en las **bibliotecas de compuestos** orientadas a obtener diversidad estructural, una metodología que tendrá cada vez mayor importancia en el descubrimiento de fármacos, ya que muchos procesos biológicos son dependientes de interacciones proteína-proteína y pueden interferirse con moléculas pequeñas que se enlazan muy eficazmente a estos lugares de interacción. **Se trata de obtener muchos compuestos nuevos con la mayor diversidad posible.**

En el descubrimiento de prototipos por el método denominado cribado de alto rendimiento (HTS) se han empleado diferentes **métodos computacionales** para valorar la **diversidad química** en una biblioteca de compuestos, y para agrupar éstos por su semejanza o diferencia en espacios suficientemente reducidos a través de sus **descriptores químicos** [30-33]. En este sentido, los **extractos de productos naturales** proporcionan una gran diversidad química y por ello han sido y siguen siendo una de las principales fuentes de fármacos [34].

El empleo del método HTS con estos extractos, va acompañado de la identificación del peso molecular de los compuestos que resulten activos, utilizando equipos LC/MS muy sensibles. Otros datos espectroscópicos pueden permitir la identificación total de su estructura, mientras que los ensayos para la determinación de si existe o no actividad biológica utilizando tan pequeñas cantidades de productos (ligando y dianas farmacológicas o células enteras), ha sido posible gracias al empleo de **metodologías analíticas miniaturizadas**, incluidas algunas dentro de la denominada **nanotecnología**. Entre éstas están las técnicas de fluorescencia o las sondas de canales iónicos.

Estas técnicas han de ser extraordinariamente sensibles, no ser destructivas y ser compatibles con la citometría de flujo o los sistemas de imagen [35]. Los ensayos de polarización de fluorescencia, por ejemplo, pueden usarse para medir la fosforilación de un sustrato por una cinasa o la inhibición de dicha fosforilación [36, 37].

Los positivos resultantes de este primer análisis, llamados **hits**, requieren ser confirmados convenientemente con ensayos complementarios, ya que a veces resulta que no lo son cuando se estudian más profundamente. También es importante investigar su actividad biológica sobre dianas diferentes.

Una vez identificado por cualquiera de los diferentes planteamientos sintéticos un prototipo con un efecto razonablemente potente, hay que optimizar su actividad biológica y sus propiedades farmacocinéticas o perfil ADMET: Absorción, Distribución, Metabolismo, Eliminación y Toxicidad, siendo especialmente importante, dada la necesidad prolongada de los tratamientos, que los fármacos posean buena biodisponibilidad oral. Esta optimización se consigue a través de la **manipulación molecular del prototipo**, dirigida por conocimientos y metodologías diversas, entre las que se incluyen los **modelos teóricos y el modelado molecular**. Armonizar la absorción con la potencia es un problema típico ya que, en general, la absorción mejora cuando el peso molecular va siendo menor, mientras que la potencia suele aumentar con éste. La optimización paralela de la potencia, la selectividad y las propiedades farmacocinéticas se denomina **optimización multiparamétrica**.

La **optimización** es un proceso de reiteración, en el que la información que se genera debe asimilarse, interpretarse y trasladarse a una actividad posterior. La experiencia demuestra que, cuando se encuentra un prototipo, debe pensarse si tiene o puede transformarse en una estructura con «aspecto de fármaco» («drug-like»). En este sentido, ha tenido gran aceptación la llamada «**regla de los 5**», que sugiere para un posible fármaco las siguientes características: a) Debe tener un peso molecular < 500 . b) Debe tener un logaritmo del coeficiente de reparto < 5 . c) Debe tener un número de grupos donadores de hidrógeno > 5 . d) Debe tener un número de grupos aceptores de hidrógeno $> 2 \times 5$. De esta forma, se asegura la difusión pasiva a través de las membranas celulares y una absorción eficaz del intestino a la sangre [38,39].

La **solubilidad en agua**, que es una propiedad crítica cuyo valor mínimo para un candidato a fármaco oral debería ser de 1mg/ml, puede determinarse por métodos turbidométricos robotizados. Sin embargo, al contrario de lo que ha sucedido con las nuevas tecnologías de síntesis o de cribado de actividad biológica, **las propiedades farmacocinéticas no podían determinarse hasta ahora por técnicas de alto rendimiento**, utilizándose modelos experimentales para predecir la absorción (membranas artificiales o células de adenocarcinoma de colon caco-2, por ejemplo), el transporte a través de la barrera hematoencefálica (células del endotelio cerebral) y la estabilidad metabólica (fracciones subcelulares del hígado en presencia de los cofactores enzimáticos si fuera necesario y análisis de los metabolitos por HPLC-MS).

Recientemente, para entender mejor el reparto a través de las membranas biológicas de los iones que generan los fármacos en el organismo (alrededor de un 72% son compuestos ionizables), se han diseñado técnicas que pueden adaptarse a los métodos HTS. Una de ellas es el uso de **membranas artificiales inmovilizadas como columnas en HPLC para predecir el transporte pasivo**.

Algunas de estas membranas artificiales inmovilizadas son comerciales, o pueden prepararse enlazando covalentemente una monocapa de fosfolípidos a partículas de sílice. La que se representa en la Figura 1, se fabrica **enlazando un grupo carboxilo terminal de diacilfosfatidilcolina (FC) a un grupo amina de una matriz de sílice-propilamina** que contiene poros de 300 Å. Los grupos de propilamina que, por impedimento estérico, quedan sin enlazarse de esta forma, se transforman en amidas neutras por reacción con ácido glicólico (u otros ácidos) [40].

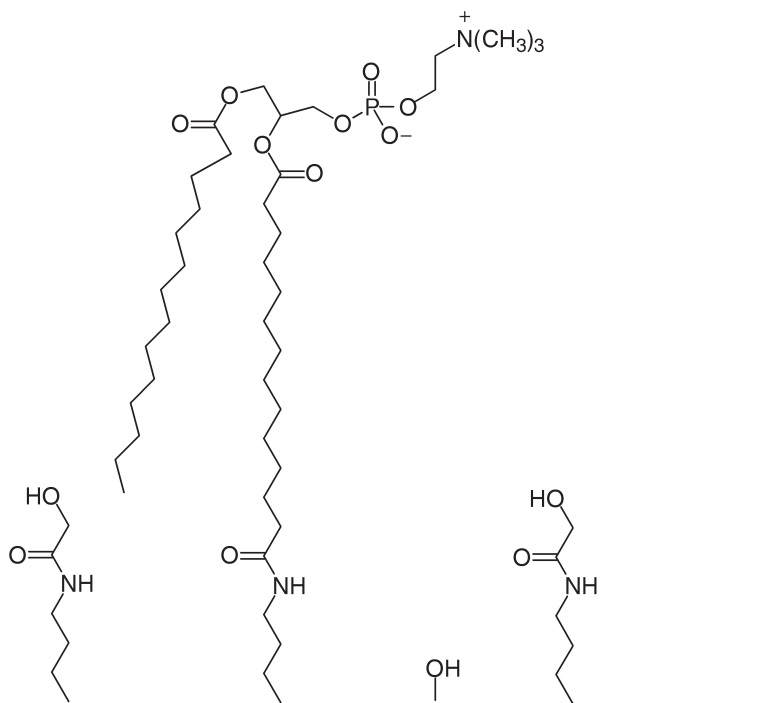


FIGURA 1. Representación esquemática de una membrana artificial inmovilizada para su empleo en columnas de HPLC.

La **predicción de la toxicidad** es importantísima, ya que más de un 75% de los costes de I+D se deben a los fracasos, de los que una tercera parte está relacionada con la toxicidad. Si es debida a la sobreexpresión de enzimas del grupo del citocromo P-450, puede monitorizarse la actividad enzimática o los niveles de mensaje; mientras que si es debida a su inhibición (que puede producir interacciones entre fármacos), puede determinarse *in vitro* utilizando enzimas recombinantes y ensayos fluorimétricos de alto rendimiento. La inhibición de otras enzimas presentes en fracciones hepáticas puede estudiarse adicionando sustratos adecuados y determinando su transformación por HPLC-MS [41].

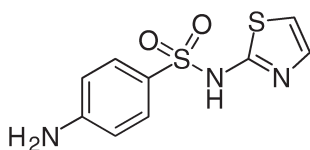
La **toxicogenómica** es una nueva área de estudio que pretende predecir y evitar las respuestas adversas de los fármacos debidas muy frecuentemente a polimorfismos en un determinado gen. Así, los relacionados con el gen MDR1 pueden tener efectos muy importantes en cuanto a la eficacia de muchos fármacos, y los relacionados con el gen CYP3A5 pueden explicar las variaciones metabólicas que afectan a un mismo fármaco en distintos enfermos [42-44].

La **metabolómica** es un nuevo análisis que puede adaptarse a estudios clínicos en humanos y permite caracterizar por resonancia magnética nuclear (RMN) los metabolitos procedentes de las biotransformaciones de los fármacos [45].

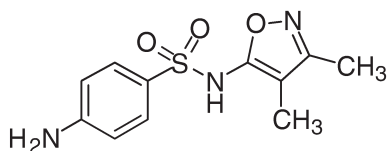
En conjunto, estas tecnologías están permitiendo el desarrollo de la «**Fisiómica**», una caracterización del biosistema en su más amplio sentido, así como una mejor comprensión de los factores y mecanismos implicados en la acción de los fármacos a fin de obtener mejores candidatos y que éstos puedan desarrollarse en menos tiempo y con menos fracasos, así como que se abandone el modelo de medicina actual basado en «el ensayo y el error».

El desarrollo de los **antagonistas del receptor de endotelina-1 ET_A**, indicados en el tratamiento de la hipertensión, son un ejemplo de cómo puede llegarse en un tiempo récord a compuestos muy selectivos si se conoce y aísla el receptor al que van dirigidos y se utiliza el método HTS. Conocida la acción vasoconstrictora del péptido de 21 aminoácidos endotelina-1 al interaccionar con dicho receptor, se descubrió que su porción C-terminal era la responsable de la unión. Simultáneamente, cribados al azar realizados en distintas industrias farmacéuticas originaron

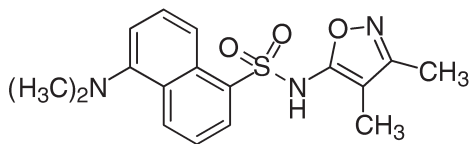
prototipos o cabezas de serie derivados de sulfonamida como sulfatiazol, sulfisoxazol, u otras, que fueron manipulados para optimizar su acción. El primero de estos compuestos que se ha comercializado ha sido **bo-sentán** (**Tracleer®**, de Actelion&Genentech), que se utiliza en el tratamiento de la hipertensión arterial pulmonar [46, 47].



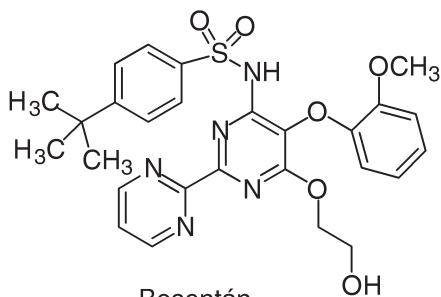
Sulfatiazol
 $Cl_{50} = 69 \mu M$



Sulffisoxazol
 $Cl_{50} = 0,78 \mu M$



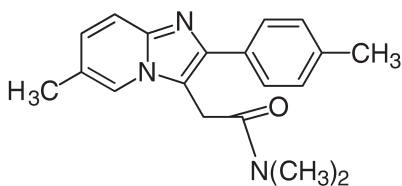
BMS 182874
 $Cl_{50} = 0,15 \mu M$



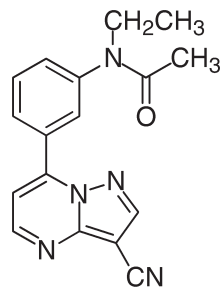
Bosentán
 $Cl_{50} = 4,7 \text{ nM}$

La innovación es a veces una cuestión de selectividad y de una mejor farmacocinética. Así, los **fármacos utilizados para combatir el insomnio** han evolucionado desde una aproximación indiscriminada, como es el caso del **barbitúrico fenobarbital** (comercializado al comienzo del siglo XX), hasta los que en la actualidad se dirigen a receptores cerebrales específicos. En los años 60 se introdujeron las benzodiazepinas, que interaccionan de forma no selectiva con diversas subunidades del complejo receptor $GABA_A$, incrementando el enlace de

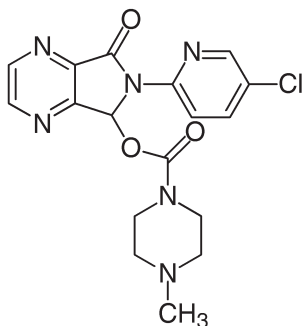
éste con el neurotransmisor GABA. Los llamados **hipnóticos no benzodiazepínicos** son superiores porque se enlazan a una sólo subunidad de este receptor, siendo por tanto más específicos. Su diseño se ha visto respaldado por el **modelado molecular**, que permitió determinar **un farmacóforo común** para todas las moléculas conocidas que poseían una acción sedante. Este farmacóforo consiste en dos átomos aceptores de protones, un grupo hidrófobo y un anillo aromático. Entre estos hipnóticos podemos citar a **zolpidem (Ambien®)**, **zopiclona (Imován®)** y **zaleplón (Sonata®)**. Un análogo de este último, denominado **indiplón**, se encuentra en Fase III. Además de no interferir con otros fármacos y no producir dependencia, poseen una vida media muy corta (desde media hora a dos horas) por lo que no mantienen el adormilamiento y pueden administrarse en el momento de acostarse o a media noche.



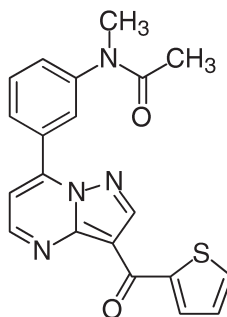
Zolpidem (Ambien®)



Zaleplón (Sonata®)



Zopiclona (Imován®)



Indiplón

Ya se ha comentado que la **innovación** en muchos casos no es de producto, sino **de nuevas formas de depósito** que facilitan el cumplimiento de estos tratamientos. Así, dentro de los fármacos contra la esquizofrenia, la **risperidona (Risperdal®)** es un potente antagonista de los receptores D_2 y $5-HT_{2A}$ que pertenece al grupo de las butirofenonas y se desarrolló en 1996 por Janssen-Cilag. Estos tratamientos son crónicos y de difícil cumplimiento, por lo que recientemente se ha desarrollado **Risperdal Consta®**, una suspensión de risperidona en microesferas de naturaleza de polímero biodegradable, que libera el fármaco de forma fija y constante durante dos semanas.

En otro orden de cosas, el conocimiento del genoma humano y la gran cantidad de aproximaciones «in silico» para explotar la información en él contenida, está proporcionando una enorme cantidad de **dianas farmacológicas** potencialmente interesantes para el desarrollo de fármacos que interaccionen con ellas, por lo que resulta imprescindible su **validación** [48].

Según un estudio realizado en 1996, los fármacos se dirigían en esa fecha hacia unas 500 dianas farmacológicas. Un 45% de éstas, eran receptores de membrana (muchos acoplados a proteína G), mientras que un 28% se dirigían a enzimas. Actualmente, la validación de las dianas farmacológicas puede hacerse a través de la utilización de **animales knock-outs o transgénicos**, a fin de averiguar si una diana que está ausente o alterada en dichos animales se asocia a un trastorno fisiológico [49]. A nivel celular, también puede inhibirse la expresión génica utilizando nucleótidos **antisentido** (ver más adelante) o **ribozimas** y estudiar las consecuencias de la carencia de una proteína. Más recientemente, se han desarrollado tecnologías que permiten **destruir selectivamente una determinada proteína** en una determinada célula.

En la mayor parte de los casos, el descubrimiento moderno de fármacos se basa en el entendimiento de cómo se produce el **reconocimiento molecular** entre los grupos del sitio activo de la diana farmacológica (enzima, receptor o canal iónico) y los grupos de los ligandos que interaccionan con él. Cuando se descubre y aísla un **receptor** y sus distintos **subtipos**, debe determinarse cuál o cuáles de estos subtipos deben bloquearse o activarse. En esta labor es muy importante disponer de animales transgénicos carentes de uno de los subtipos, como son los ratones *knock-out* a los que ya hemos hecho referencia.

Hay que señalar, que el descubrimiento de fármacos que interaccionan con **canales iónicos**, cuya disfunción es causa de múltiples enfermedades (arritmias cardíacas, diabetes, hipertensión, angina de pecho, epilepsia, etc), ha dado lugar a compuestos muy importantes, pero su total desarrollo está todavía por llegar.

La mayoría de las dianas farmacológicas son **proteínas**, cuya **estructura tridimensional** es consecuencia de las interacciones entre las cadenas laterales de los aminoácidos que las componen. Esta estructura es determinante para su función y para el reconocimiento molecular, mientras que la secuencia de los aminoácidos no es tan relevante. De hecho, es frecuente que proteínas con secuencias distintas posean funciones biológicas semejantes, mientras que proteínas con secuencias parecidas pueden tener funciones diferentes.

La proteómica estructural ha evolucionado enormemente desde que se definió la primera estructura de una proteína en 1960 utilizando cristalografía de rayos X, de tal forma que el número de proteínas cuya estructura se conoce crece exponencialmente (el banco de datos de proteínas incluye actualmente unas 20.000 estructuras) y, aunque el diseño de fármacos basado en estos conocimientos se está desarrollando más lentamente de lo esperado, será cada vez más importante.

El estudio de la estructura cristalina de las proteínas de interés terapéutico, y de sus complejos con determinados ligandos por difracción de rayos X, se ha visto facilitado por **nuevos métodos para la recristalización de estas macromoléculas**. Hoy existen **nuevas tecnologías de cristalografía de rayos X de alto rendimiento (HTX)**, que acoplan **técnicas computacionales**, o **tecnología *in silico*** para **detectar y optimizar candidatos a fármacos que puedan interaccionar con una diana determinada**.

En plena actualidad del **síndrome respiratorio severo agudo (SARS)** se ha publicado el modelo de la proteasa principal (M^{Pro} , 3CL^{pro}) que es necesaria para activar la replicación del coronavirus que lo produce (SARS-CoV) M^{Pro} . Este modelo (ver el monómero en la Figura 2) está basado en las estructuras cristalinas, determinadas por rayos X, de otra proteasa aislada de un coronavirus humano y del complejo entre otra proteasa aislada de un coronavirus porcino y un inhibidor de la misma [50,51]. En la Figura 2 se señalan los dominios I-III, se representan en

rojo las hélices α (de la A a la F) y un giro A' en el segmento N-terminal y en verde las láminas β (de la a a la f) con indicación del dominio en el que se sitúan. Se indican también los aminoácidos Cys¹⁴⁴ (C144) e His⁴¹ (H41), ya que son la diada catalítica.

El modelado molecular sugirió que los inhibidores de la proteasa del rinovirus 3C^{pro}, entre los que se encuentra el peptidomimético AG7088 ensayado por Pfizer contra el virus que produce el catarro común, convenientemente modificados, podrían ser de utilidad en la **quimioterapia SARS**. En la figura se representa también un modelo en el que el compuesto AG7088 (en azul) está unido al **sitio activo de la proteasa principal del coronavirus SARS** por el resto de cisteína (en amarillo).

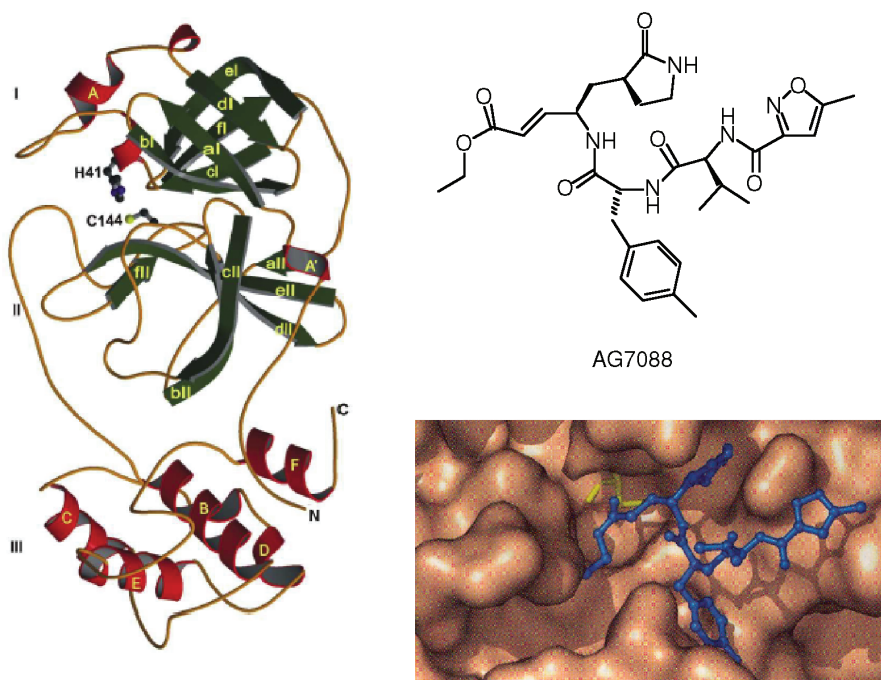


FIGURA 2. Modelo de la proteasa (SARS-CoV) M^{Pro} , estructura del peptidomimético AG7088 inhibidor de la proteasa del rinovirus 3C^{pro}, y modelo de enlace de dicha estructura con la proteasa (SARS-CoV) M^{Pro}

El **sincrotrón**, un acelerador de partículas de unos 250 metros de perímetro que permite el estudio de las propiedades microscópicas de los materiales hasta los niveles de la nanotecnología, será también imprescindible para estudiar las configuraciones moleculares de las proteínas así como para analizar virus o bacterias. En el mismo sentido, la correlación entre ciertos datos de **resonancia magnética nuclear** (RMN) y la actividad biológica también es útil. Actualmente, el conocimiento de la estructura tridimensional de un gran número de proteínas y de sus complejos con ligandos específicos, unido a los avances en las técnicas computacionales, ha hecho que éstas se prefieran a veces al cribado de alto rendimiento para encontrar «cabezas de serie», porque como ya se ha comentado, el método HTS suele dar con frecuencia falsos positivos [52].

Muchas de **las técnicas computacionales** se basan en el hecho de que «las moléculas con formas y circunstancias semejantes tienen frecuentemente actividades biológicas semejantes», existiendo varios métodos para investigar bases de datos y buscar nuevos prototipos basados en la semejanza de toda o parte de la estructura. No obstante, si se tiene en cuenta que las proteínas son flexibles y que, en ciertos casos, podrían enlazarse a ligandos muy diferentes, puede entenderse que se requiera un gran número de simulaciones. Para definir un **farmacóforo**, que es la mínima porción estructural responsable de una actividad farmacológica, hay que reducir una gran información molecular y espacial que se obtiene a partir de un conjunto de moléculas activas, a un número de puntos más concreto.

¿Cómo pueden surgir las ideas que finalmente se materializan en fármacos comercializados? Es evidente que el éxito de una investigación aplicada depende de los avances en la investigación básica. Se ha dicho que, actualmente, el avance en el descubrimiento de nuevos fármacos está unido al avance de la **Bioinformática**, ya que la investigación biológica básica está siendo capaz de determinar incluso qué genes codifican las proteínas asociadas a un proceso patológico determinado.

Los resultados de estas investigaciones biológicas se almacenan en enormes bases de datos, pero tienen que convertirse en conocimientos concretos. Para ello, es necesario aplicar la **tecnología de la información**, ya que para estudiar qué funciones tienen los genes hay que disponer de un *software* capaz de analizar cantidades ingentes de información y de realizar estudios comparativos para el reconocimiento de modelos a fin de facilitar la

revolución proteómica. Puede constatarse la creación de muchas **empresas bioinformáticas** para realizar este análisis, y proporcionar así a las empresas farmacéuticas un *software* que combine la información genética con las bases de datos acerca de la estructura de las proteínas.

También se abre paso el término «systems biology», que no debe traducirse por «biología de los sistemas» ya que esta parcela de estudio biológico se sitúa entre los componentes individuales de la célula y el sistema, es decir, entre la biología molecular y la fisiología (que estudia el organismo entero). Se trata de romper el aislamiento que existe actualmente entre la genómica, la proteómica y la metabolómica mediante el modelado matemático de los sistemas biológicos. Estas simulaciones deben explicar o predecir cómo interactúan los componentes celulares.

Muchas compañías utilizan como modelos para estos propósitos células de cáncer de colon y de la bacteria *Escherichia coli*. La idea es que no basta con identificar una diana molecular para comenzar el descubrimiento de fármacos, sino que hay que situar a esta diana en su contexto, y entender los procesos en los que está inmersa. Esta aproximación es especialmente importante en el caso de enfermedades complejas, en las que están implicados varios genes y requieren distintas aproximaciones para su tratamiento [53].

Se supone que al menos 1/3 de los proyectos I+D de las grandes empresas farmacéuticas utilizan tecnologías de ADN recombinante y genética molecular, y se prevé que **la Biotecnología y la bioinformática cambiarán la práctica médica**, de tal forma que averiguar la secuencia genómica de un paciente será una prueba analítica tan común como es hoy la determinación del grupo sanguíneo. Se detectarán así polimorfismos y mutaciones que permitirán una mejor medicina preventiva y una terapia personalizada. Basándose en el genotipo más que en el fenotipo, **las enfermedades se definirán por sus causas en vez de por sus síntomas.**

4. LAS INDUSTRIAS BIOTECNOLÓGICAS. ANTICUERPOS MONOCLONALES, PROTEÍNAS Y OTROS FÁRMACOS OBTENIDOS POR INGENIERÍA GENÉTICA

La industria farmacéutica está siendo presionada para encontrar nuevos caminos de innovación, existiendo una lucha entre dos tendencias:

los **fármacos de «molécula pequeña»** (los **tradicionales**) y los **de «molécula grande»** («**biológicos**»), si bien los primeros también pueden obtenerse por medios biológicos y los segundos por métodos químicos. Este es el caso del agente antitrombótico **fondaparinux sódico** (**Arixtra®**, de Sanofi-Synthelabo), un inhibidor selectivo del factor Xa.

Las grandes compañías se han desarrollado hasta ahora partiendo de **conocimientos esencialmente químicos**, guiados cada vez más por la farmacología y las ciencias clínicas [54], mientras que las empresas biotecnológicas están basadas en la **biología experimental**. Parece demostrado que cuesta menos desarrollar una «molécula pequeña» (tradicional) que una «biológica» (ya sea una molécula pequeña, una proteína o un gen), de tal forma, que una gran firma farmacéutica tradicional puede desarrollar simultáneamente 100 proyectos (teniendo en cuenta que sólo 5 acabarán teniendo éxito), mientras que en las nuevas empresas con vocación biológica, no cabe desarrollar simultáneamente más de unos 3 proyectos.

Estos dos enfoques también suelen diferenciarse en las dianas terapéuticas a las que dirigen sus fármacos. Así, los fármacos con estructura proteica se dirigen normalmente a dianas extracelulares.

También se diferencian en la metodología que se aplica para desarrollar moléculas pequeñas. Las compañías biotecnológicas que, como Biogen o Amgen, tienen proyectos de este tipo, no empiezan a desarrollar ninguna molécula hasta que se conoce exactamente qué papel juega la diana terapéutica a la que va dirigida y, en consecuencia, se sabe qué hacer cuando se obtenga y los ensayos que han de realizarse.

Otra diferencia, es que muchos fármacos de molécula grande se enfrentan a problemas de administración. Recordemos que, aunque algunas proteínas han podido ser formuladas para ser inhaladas, la mayoría requieren ser inyectadas. Por tanto, se intenta que no tengan que administrarse diariamente, y en el caso de las vacunas, que los efectos puedan conseguirse con una sola administración.

Un 26% de los nuevos fármacos introducidos en 1998 fueron productos biotecnológicos, en su mayoría proteínas recombinantes y anticuerpos monoclonales y se estima que **un 30% de los fármacos que se encuentran en desarrollo preclínico son biofarmacéuticos** [55]. Si un 1 ó 2% de las proteínas que codifica el genoma humano tuviera un valor

terapéutico habría que incorporar entre 120 y 280 nuevos fármacos con estructura de proteína. Sin embargo, no se espera que los productos biotecnológicos tengan un crecimiento excepcional, ya que estos fármacos también han encontrado muchas **dificultades en las fases clínicas II y III**, un periodo de desarrollo en el que se produce un 40% de fracasos en ambos tipos de fármacos. En el año 2002 se aprobaron 20 entidades biofarmacéuticas, y otras 15 ampliaron sus indicaciones. Su valor económico supone un 8% del mercado mundial de fármacos, un porcentaje que podría ascender al 15% en el año 2006.

Como la industria farmacéutica tradicional carece en general de infraestructuras para la preparación de productos biofarmacéuticos, son muchas las compañías que están asociadas a pequeñas empresas de biotecnología y/o trabajan para desarrollar ésta en un futuro. Así, GSK se ha aliado con Corixa para desarrollar el antitumoral **Bex-xar®**, y ha adquirido la licencia de los fármacos del aparato respiratorio que se están experimentando en Theravance. AstraZeneca se ha aliado con Dyax, para que esta empresa le suministre un anticuerpo monoclonal que posee una gran afinidad por una diana terapéutica muy importante en Alzheimer. Biogen se ha asociado con Icos, para desarrollar un fármaco de molécula pequeña antipsoriasis que pueda competir con **Raptiva®**, de Genentech y Xoma. Roche ha adquirido la licencia de los productos oncológicos de la empresa Antisoma, incluyendo los de un producto en Fase II contra el cáncer de ovario denominado **Pemtumomab**.

Todo esto es posible tras el conocimiento de la **estructura del ADN** por Watson y Crick, que en 1953 sentó las bases de la **Biotecnología** [56]. La frase inicial de su histórico artículo era: «Deseamos proponer una estructura para la sal del ácido desoxirribonucleico (A.D.N). Esta estructura tiene características nuevas que son de considerable interés biológico». Gracias a la Biotecnología se produjeron por **ingeniería genética** a partir de 1986 los primeros **interferones**, que se utilizaron en un principio en el tratamiento de leucemia.

A partir de 1997, la ingeniería genética ha desarrollado los **anticuerpos monoclonales**, que están teniendo gran éxito en el tratamiento del cáncer y de la artritis reumatoide, como se verá más adelante. Los anticuerpos son proteínas producidas por tejidos linfoides en respuesta a la

presencia de antígenos. Su especificidad frente a una determinada proteína (antígeno) es tan grande que, aunque una célula pueda contener miles de proteínas diferentes, una preparación de anticuerpos sólo interacciona con aquéllas que tengan una pequeña porción característica del antígeno. Tradicionalmente se preparaban y todavía se preparan inmunoglobulinas a partir de antisueros, que se consiguen inyectando repetidamente a un animal un antígeno y extrayendo el suero de la sangre después de varias semanas, tras eliminar células y factores de coagulación. Con esta técnica, aunque el antígeno sea muy puro, el animal produce una gran variedad de inmunoglobulinas, por lo que se tienen **sueros polivalentes**.

En 1975, Kohler y Milstein desarrollaron los primeros **anticuerpos monovalentes**, inyectando a un animal un antígeno purificado, retirando el bazo u otros tejidos linfoides cuando se habían producido los anticuerpos, y formando células híbridas (hibridomas) con células B cancerosas procedentes de mieloma de ratón. Los hibridomas así obtenidos, creciendo y proliferando indefinidamente, produjeron una gran cantidad de un anticuerpo único que, al proceder de una sola colonia o clon, se denominó **anticuerpo monoclonal (AcMo)**.

Los AcMo se pueden utilizar para purificar un antígeno y como pruebas de diagnóstico médico. Por ejemplo, una concentración elevada del antígeno prostático específico, APE, puede ser indicio de cáncer de próstata. En la actualidad, se está abriendo paso su uso como fármacos fácilmente reconocibles por el sufijo «**mab**» («**monoclonal antibodies**»). Citemos algunos ejemplos.

El crecimiento de las células de cáncer de mama está regulado por la estimulación autocrina o paracrina de **receptores de factores de crecimiento**, siendo los **receptores de tirosina quinasa** localizados en la membrana plasmática, los mejor caracterizados. Esta familia de proteínas está compuesta por cuatro receptores homólogos: el receptor para el **factor de crecimiento epidérmico** («EGFR») HER1 ó ErbB-1, y sus homólogos **HER2 ó ErbB-2**, que es el más importante, HER3 ó ErbB-3, y HER4 ó ErbB-4. Todos están formados por una región extracelular que se une al ligando, una porción lipófila de transmembrana, y otra región intracelular que constituye el segmento carboxi-terminal y posee actividad tirosina quinasa.

Esta actividad intrínseca sólo se pone de manifiesto cuando se dime-rizan dos receptores idénticos, o dos diferentes dentro de la misma fami-lia, produciendo la autofosforilación de residuos de tirosina específicos del segmento intracelular del receptor. A su vez, esta fosforilación es la que provoca la **transducción de señales de mitogénesis**.

El receptor HER2 se ha propuesto como **diana para el desarrollo de fármacos antitumorales** porque está sobreexpresado en el 25-30% de los cánceres de mama humanos y, porque si se introduce en células no tumorales, las transforma en malignas. En consecuencia, los anticuerpos monoclonales dirigidos contra este receptor inhiben el crecimiento de es-tos tumores [57].

La compañía Genentech desarrolló una serie de **AcMo murinos di-rigidos contra el receptor HER2**, y uno de los más potentes lo «huma-nizó» por ingeniería genética. Tras superar los ensayos clínicos se le de-nominó **trastuzumab**, y está comercializado por Roche con el nombre de **Herceptin®**. Su administración provoca la internalización de HER2, y la supresión parcial de la formación de los heterodímeros HER2/HER3 y HER2/HER4. También tiene actividad antiangiogénica y produce otros efectos que podrían explicar su acción. Su administración en mujeres con cáncer de mama metastásico de reciente diagnóstico y niveles HER2 muy elevados, ha resultado ser un tratamiento efectivo y seguro, y su asocia-ción con paclitaxel y adriamicina (los dos agentes quimioterápicos más activos para el tratamiento del cáncer de mama), aumenta los efectos an-titumorales de dichos fármacos y el tiempo de supervivencia. Se ha apro-bado **su uso sólo o en combinación con paclitaxel**, y se estudia en clí-nica su **asociación con otros antitumorales**, como los inhibidores de aromatasa, el cis-platino, o el docetaxel.

Otro AcMo comercializado por Roche es **rituximab (Mabthera®)**, que está aprobado en España para el tratamiento de pacientes con linfo-mas de Hodgkin foliculares que hayan recaído o no respondan a la qui-mioterapia. **Alemtuzumab (MabCampath®** de Schering), es otro anti-cuerpo monoclonal humanizado obtenido por ingeniería genética mediante la inserción de seis regiones complementarias-determinantes del anticuerpo monoclonal de rata IgG_{2a} en una molécula de inmunoglobuli-na humana IgG₁. Éste es capaz de reconocer al antígeno humano CD52, una glicoproteína de membrana expresada en el 100% de los casos de

leucemia linfocítica crónica y en la mayoría de los linfomas no hodgkinianos. Este anticuerpo, tras su unión a los antígenos CD52 que es muy selectiva, puede provocar la lisis de las células.

Cetuximab (ErbixTM) es otro anticuerpo monoclonal para el **tratamiento del cáncer colorrectal** cuyo lanzamiento **se prevé en 2004**. Si recibe vía libre, el fármaco será comercializado en Europa por la empresa alemana Merck y en Norteamérica por Bristol-Myers Squibb. La historia de su desarrollo es semejante a un «thriller». El inmunólogo Sam Waksal fundó en 1984 la empresa biotecnológica ImClone Systems, que empezó a conocerse en 1999 con el hallazgo de este prometedor anticuerpo contra el cáncer. Bristol Myers, propietario de 20% de las acciones de ImClone, vio cómo duplicaban su valor y cómo comenzaron a perderlo, hasta que cayeron en picado cuando se rechazó su aprobación por la FDA por falta de resultados clínicos concluyentes.

Al retrasarse su entrada al mercado, se perdía la ventaja sobre otras empresas que desarrollan tratamientos similares (AstraZeneca con **Iressa®**, OSI Pharmaceuticals o Genta). Sin embargo, su potencial es enorme, como demuestra el caso de una paciente de 28 años diagnosticada de cáncer de colon incurable, que tras un mes de tratamiento con ErbixTM experimentó una reducción de sus tumores que permitió su extirpación. Actualmente, la FDA está en proceso de revisión de datos adicionales derivados de experimentos clínicos conducidos por Merck AG en Europa y, aunque hay quienes dudan que todo llegue a feliz término, parece que va a ser así.

Recientemente, se han comercializado como antiinflamatorios dos fármacos que inhiben la acción del **factor de necrosis tumoral (TNF)**. El primero es un anticuerpo monoclonal específico de su receptor en la membrana celular, denominado **infiximab (Remicade®)** y desarrollado por Schering Plough Biotech. El segundo es la forma dímera soluble de dicho receptor, que en la naturaleza funciona como una proteína de transporte. Al asociarse extracelularmente con TNF, impide la interacción de éste con su receptor situado en la membrana celular, e impide la respuesta inflamatoria mediada por dicha citoquina. Este fármaco se denomina **etanercept (Enbrel® de Wyeth-Ayerst)**, y es una proteína de fusión obtenida por tecnología de ADN recombinante que se ha unido a un fragmento de la inmunoglobulina humana G1. Ambos fármacos se han propuesto

para su uso en la **artritis reumatoide** (AR), una de las enfermedades que más se está beneficiando de estos nuevos tratamientos, siendo una alternativa a los **inhibidores de COX-2** o a los nuevos **inmunomoduladores**, como **tracólimo**, **micofenolato de mofetilo** o **leflunomida** [58].

Etanercept está indicado especialmente en la reducción de los síntomas de la artritis activa en pacientes con artritis psoriásica. El tratamiento anual, suponiendo una dosis de 25 mg dos veces por semana, tendría un coste aproximado de 13.000 . **Infliximab**, por otra parte, deriva de un ADN recombinante formado por genes humanos y murinos y se utiliza perfundido como inmunosupresor selectivo en la artritis reumatoide y para evitar la cirugía en la enfermedad de Crohn. El coste anual por paciente en la primera aplicación se aproxima a los 10.800 .

Abbott está estudiando el primer AcMo totalmente humano: **D2E7** (**Adalimumab**). Este anticuerpo **bloquea** el factor **TNF α** y, por tanto, se dirige a enfermedades autoinmunes como la artritis atópica juvenil y la enfermedad de Crohn.

5. FÁRMACOS EXCEPCIONALMENTE INNOVADORES. FÁRMACOS ANTISENTIDO, ENZIMAS RECOMBINANTES Y TERAPIA GÉNICA

Los **fármacos excepcionalmente innovadores** son los que suponen la introducción de un tratamiento que antes no existía. Entre ellos merecen ser mencionados **agalsidasa α** (**Replegal®** de TKT Europa) y **agalsidasa β** (**Fabrazyme®** de Genzyme), comercializados para el tratamiento de la **enfermedad de Fabry**. Ésta es una de las llamadas «enfermedades raras», que se caracteriza por un dolor y un malestar permanentes. Es una enfermedad metabólica genética producida por un gen defectuoso del cromosoma X. Por eso, la padecen de forma más importante los hombres con un cromosoma X defectuoso y las mujeres homocigóticas con dos cromosomas X defectuosos. La **agalsidasa** (α -galactosidasa A) es una **enzima humana obtenida de forma recombinante** que hidroliza el glucoesfingolípido ceramida trihexósido (Gb3 ó GTH), que se acumula cuando la enzima falta en los fluidos orgánicos y en los lisosomas de las células del músculo liso, endoteliales, ganglios, corazón, sistema nervioso, ojos, etc.

Otra gran innovación en el **tratamiento** de la **osteoporosis** consiste en la utilización de terapias anabólicas diseñadas para construir la masa ósea, en lugar de utilizar fármacos anti-osteoporosis. El primer fármaco que se comercializará para este propósito será probablemente **teriparatida (Forteo®)**, que es una **hormona paratiroidea recombinante**.

La proteína C humana es una glicoproteína que circula por la sangre en forma inactiva, pero que cuando se activa por el complejo trombina/trombomodulina (esta última es un receptor de membrana de las células endoteliales), desarrolla su actividad de proteasa de serina y destruye los factores de coagulación Va y VIIIa con la colaboración de la proteína S. Para impedir la falta prolongada de coagulación que provoca la proteína C humana, su vida media es corta (de 7-9 h).

La deficiencia congénita de esta proteína se denomina «púrpura fulminante» pero también puede inducirse esta deficiencia por administración de anticoagulantes cumarínicos que, como la warfarina, son antagonistas de la vitamina K esencial para su síntesis en el hígado. Ambas situaciones producen un incremento en la coagulación o en la trombosis, que puede manifestarse por necrosis de la piel a consecuencia de los trombos. Mientras se desarrolla el producto recombinante, Baxter ha obtenido y comercializado la **proteína C humana (Ceprotin®)** extrayéndola por cromatografía de afinidad utilizando anticuerpos monoclonales murinos inmovilizados de plasma purificado.

Otra gran innovación **podría ser una vacuna contra el cáncer**. En este sentido, podemos mencionar un producto que se ha obtenido mediante la incorporación a una cepa no infecciosa de la bacteria *Salmonella typhimurium* de una porción de ADN que codifica una proteína que se produce en los vasos sanguíneos denominada **factor de crecimiento endotelial vascular 2**. Los ratones tratados con este producto mostraron un menor crecimiento en sus vasos sanguíneos, interrumpiendo el abastecimiento de sangre a los tumores.

En el terreno de la innovación farmacocinética podemos citar a la **darbepoetina α (Aranesp®/Epogen®)**, una eritropoyetina desarrollada recientemente por **Amgen** (está comercializada también por J&J con los nombres de Erypo®/Procrit®), que está producida por ingeniería genética en células de ovario de Hamster chino (CHO-K1). Este producto biosintético es la proteína recombinante con actividad terapéutica que tiene

más éxito en la actualidad. Tiene la misma secuencia de aminoácidos que la eritropoyetina humana (EPO) y que la humana recombinante (r-HuE-PO), pero posee 5 cadenas de azúcar en vez de las 3 cadenas que poseen éstas y esta circunstancia hace que **Aranesp®** posea una **vida media tres veces mayor** y pueda utilizarse **una vez a la semana** por inyección subcutánea o intravenosa en jeringuillas precargadas.

La **eritropoyetina (EPO)** es una glicoproteína que en su forma activa está constituida por 165 aminoácidos y regula la eritropoyesis. Al interaccionar con sus receptores específicos, que se encuentran en las células progenitoras de los eritrocitos presentes en la médula ósea, estimula la proliferación, maduración y diferenciación de éstos. Esta unión produce la inhibición de la ATPasa de Ca^{2+} y el consiguiente aumento de Ca^{2+} intracelular, que desencadena varios procesos a través de segundos mensajeros. Éstos concluyen con la transcripción y replicación del ADN, la síntesis de los correspondientes ARNm, ARN ribosómicos y de transferencia, y el consiguiente aumento en la producción de grupos hemo para la fijación del hierro.

La producción de eritropoyetina en el riñón se regula por los cambios en la oxigenación de los tejidos, y su administración controlada en el tratamiento de la anemia asociada a la insuficiencia renal crónica y a los tratamientos oncológicos, mantiene los niveles óptimos de hemoglobina [59]. Aunque la eritropoyetina humana recombinante no fue diseñada como tal molécula de forma racional, el papel fisiológico de esta proteína llamó la atención de los científicos de Amgen en los años 1980s y se seleccionó para dirigir los esfuerzos económicos y científicos necesarios para la clonación de su gen promotor.

Por otra parte, Aventis Pharma y Traskaryotics Therapies están estudiando **Dynepro**, un **fármaco génico** que activa la producción de eritropoyetina que, si se aprueba, sería el primer ejemplo de **terapia génica** accesible en el mercado.

En 1998 la FDA aprobó el primer **fármaco antisentido** denominado **fomivirseno (Vitravene®)**. Los fármacos antisentido tienen como dianas a los ácidos nucleicos (ADN y más frecuentemente ARNm) y están formados por secuencias «antisentido» o secuencias de oligonucleótidos («**oligos**») invertidas. Éstas resultan complementarias de un trozo de código genético que codifica mensajeros peligrosos. Si tienen como diana

a la doble hélice del ADN, forman localmente una triple hélice y se llaman más propiamente fármacos **antigen** [60]. Si un fármaco antisentido bloquea una secuencia de ARNm que codifica un oncogén, tendremos un antitumoral.

Los mayores problemas de los fármacos antisentido radican en cómo penetrar en las células, cómo evitar su degradación por nucleasas, y cómo obtener un enlace eficaz con la secuencia del ARNm. Los dos primeros se han resuelto a través de cambios en los agrupamientos diéster del ácido fosfórico, que enlaza los hidroxilos 3' y 5' de las unidades de ribosa. Así ocurre en **alicaforseño (Isis 2302)**, de Isis Pharmaceuticals, que es la sal nonadecasódica de un oligonucleótido fosforotioato de fórmula molecular $C_{192}H_{225}N_{75}Na_{19}O_{98}P_{19}S_{19}$. Inhibe la síntesis de la molécula 1 de adhesión intracelular ICAM-1, se encuentra en ensayos de fase III y se prevé utilizar en pacientes con la **enfermedad de Crohn**.

Hay que destacar también que el estudio de los factores que gobiernan la estructura terciaria de los ácidos ribonucleicos (ARN) está en auge y, por consiguiente, es previsible el desarrollo de fármacos dirigidos a estas estructuras como dianas farmacológicas.

Aunque los orígenes de la **terapia génica**, que consiste en transferir ADN a los pacientes, se remontan a la década de los 70, su desarrollo ha encontrado numerosas dificultades. Ya se ha comentado que **dynepro** será probablemente el primero de estos fármacos génicos y se utilizará en el tratamiento de la anemia asociada a la insuficiencia renal crónica o a los tratamientos antitumorales. Otros fármacos génicos se encuentran en fases de desarrollo avanzado. Por ejemplo, Onyx Pharmaceuticals estudia **Onix-015**, un adenovirus que inserta un fragmento de ADN en células cancerígenas que han perdido la funcionalidad del gen p53.

6. CONCLUSIÓN

Las empresas farmacéuticas están especializándose; desde las que se dedican a la preparación de genéricos, en las que la innovación se restringe en todo caso a la optimización de procesos de síntesis, a las que se han planteado liderar la innovación con todas sus consecuencias utilizando estrategias y alianzas muy diversas. Estas empresas se encuentran ante un hecho

incontestable: que la actual explosión de tecnologías sofisticadas derivadas del genoma, de sistemas robotizados y de cribado de alto rendimiento de bibliotecas de compuestos, están asociados a una reducción en la productividad si se analiza el número de fármacos que han sido aprobados por la FDA desde 1996 (Figura 3) a pesar de que los gastos en I+D siguen creciendo de tal modo que en muchos casos se ha más que duplicado el gasto desde 1995 (Figura 4). La situación en Europa es semejante [61].

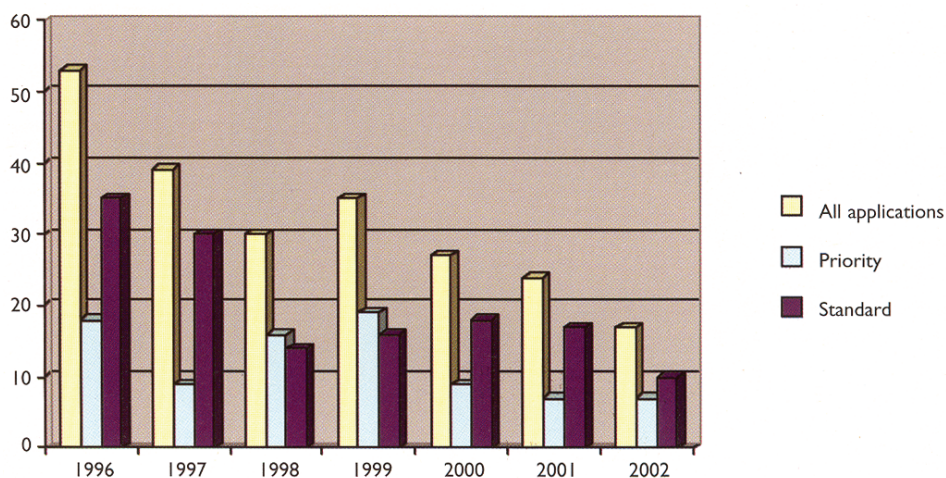


FIGURA 3. Descenso de aprobaciones de nuevas moléculas por la FDA desde 1996 al 2002. Las aplicaciones estándar se refieren a fármacos con cualidades terapéuticas análogas a otros ya comercializados, mientras que las prioritarias significan un avance respecto a la terapia disponible.

La realidad es que se dispone de una ingente cantidad de datos de los que se entiende muy poco y que ocho de los diez fármacos más vendidos en 2002 son inhibidores enzimáticos o antagonistas de dianas farmacológicas específicas que se han diseñado racionalmente o, al menos, «de forma dirigida». Entre ellos destacan dos estatinas inhibidoras de la HMG-CoA reductasa: Lipitor® (atorvastatina) de Pfizer y Zocor® (simvastatina) de Merck; dos inhibidores de la bomba de protones: Losec®/Prilosec® (omeprazol) de AstraZeneca y Ogastro®/Prevacid® (lansoprazol) de TAP Pharma; un antipsicótico atípico antagonista de neuroreceptores: Zyprexa® (olanzapina) de Lilly; un bloqueante de canales de calcio: Norvasc® (amiodipina) de Pfizer; y el inhibidor de COX-2 Celebrex® (celecoxib) de Pfizer (Farmacia) [58].

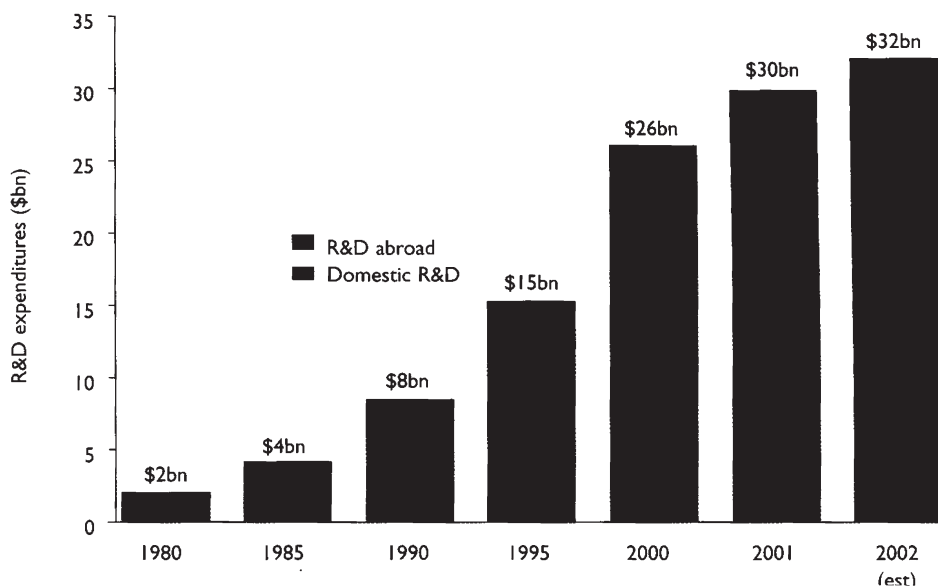


FIGURA 4. Evolución de la inversión en I+D de las compañías farmacéuticas de USA desde 1980 al 2002 (PhRMA 2003).

A pesar de la lentitud con que se producen los resultados, es evidente que se continuará identificándose nuevas enzimas y receptores, así como sus ligandos, que estén implicados en procesos fisiológicos o patológicos. Éstos serán nuevas dianas farmacológicas y darán lugar a fármacos con mayor eficacia que los obtenidos por química combinatoria o cribado de compuestos naturales, al ser más selectivos y con menores efectos secundarios.

El camino es conocer a fondo una enfermedad, entender su patología a nivel molecular, identificar la diana farmacológica que la produce o sus síntomas, conocer la estructura de esta diana y disponer de modelos tridimensionales, aplicar el proceso reiterado de síntesis y ensayo de compuestos para determinar su potencia y selectividad, y así poder diseñar una entidad que pueda interaccionar de forma óptima.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) Goodfellow, P.N. «The pharmaceutical industry harbours a dirty secret», *Chem. Brit.*, **2002**, 3, 3.

- (2) Ganellin, C.R.; Mitscher, L.A.; Topliss, J.G. «Educating Medicinal Chemists», *Ann. Rep. in Med. Chem.* **1995**, 30, 329.
- (3) Ganellin, C.R.; Mitscher, L.A.; Clement, B.; Kobayashi, T-H.; Kyburz, E.; Lafont, O.; Marcincal, A.; Monge, A.; Tarzia, G.; Topliss, J.G. «University education of medicinal chemists. Comparison of eight countries», *Eur. J. Med. Chem.* **2000**, 35, 163.
- (4) Zubrod, C.G. «Origins and development of chemotherapy research at the National Cancer Institute» *Cancer Treat. Rep.* **1984**, 68, 9-19.
- (5) Shoemaker, R.H.; Sausville, E.A. «Drug Development. Oxford Textbook of Oncology», 2.^a Ed.; Oxford University press, **2002**, pg. 781-788.
- (6) Steere, W.C. Jr; Niblack, J. «The long-term winners are those that provide quality and value», en «Innovation», Kanter, R.M.; Kao, J.; Wiersema, F. (ed.) Harper Business, **1997**.
- (7) Liggett, S.B. « Pharmacogenetic applications of the Human Genome project» *Nat. Med.* **2001**, 7, 281-283.
- (8) Mundy, C. «The human genome project: a historical perspective» *Pharmacogenomics*, **2001**, 2, 37-49.
- (9) Aizpurua, I. «Nueva formulación de interferón en el tratamiento de la hepatitis. Peginterferón a-2b (Pegintrón®)», *El farmacéutico de Hospitales*, **2002**, 133, 9.
- (10) Thompson, W.L. «Research Investments in a Managed Care, Cost-containment Oligopsony», *Ann. Rep. Med. Chem.* **1995**, 30, 339.
- (11) «Financiación de la Innovación, Informes sobre el Sistema Español de Innovación», COTEC, Madrid, **1999**.
- (12) González, A. «Objetivos: más I+D propia en España y retornos», *Diario Médico*, 25 de mayo de **2001**.
- (13) Hays, J.N. «The Burdens of Disease: Epidemics and Human Response in Western History», Rutgers University Press, **1998**.
- (14) Drews, J. «Drug discovery: a historical perspective», *Science*, **2000**, 287, 1960-1064.
- (15) a) Barker, A.J., Gibson, K.H.; Grundy, W.; Godfrey, A.A.; Barlow, J.J.; *et al.* «Studies leading to the identification of ZD1839 (IRESSA): an orally active selective epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor targeted to the treatment of cancer» *Bioor. Med. Chem. Lett.*, **2001**, 11, 1911-1914. b) Barker, A.J. «EGFR tyrosine kinase inhibitors in the treatment of cancer», en «Medicinal Chemistry into the millenium» Campell, M.H.; Blabrough, I.S. (ed.), The Royal Society of Chemistry, **2001**, pg. 140-147.

- (16) Briges, A.J. «CI-1033: An Irreversible Inhibitor of the ErbB Family of Oncogenes», Parke-Davis Pharmaceutical Research, Abstract 27th National Medicinal Chemistry Symposium, Kansas, Junio 2000.
- (17) Buchdunger, E.; Zimmermann, J.; Mett, H.; Meyer, T.; Muller, M. *et al.* «Inhibition of the Abl protein-tyrosine kinase *in vitro* and *in vivo* by a 2-phenylaminopyrimidine derivative», *Cancer Res.* **1996**, *56*, 100-104.
- (18) Le Coutre, P.; Mologni, L.; Cleris, L.; Marchesi, E.; Buchdunger, E. *et al.* «*In vivo* eradication of human BCR/ABL-positive leukemia cells with an ABL kinase inhibitor», *J. Natl. Cancer Inst.* **1999**, *91*, 163-168.
- (19) Savage, D.G.; Antman, K.H. «Imatinib mesylate. A new oral targeted therapy», *N. Engl. J. Med.*, **2002**, *346*, 683.
- (20) Salituro, F.G. *et al.* «Discovery of VX-745: A Novel, Orally Bioavailable and Selective p-38 MAP Kinase Inhibitor», Abstract, 27th National Medicinal Chemistry Symposium» Kansas (EEUU), Junio **2000**.
- (21) a) Foote, C.S. *Photochem. Photobiol.* **1991**, *54*, 659. b) Kato, H. *Photochem. Photobiol.* **1998**, *42*, 96.
- (22) Bonnett, R.; Charlesworth, P.; Fjelal, B.D.; Foley, S.; McGarvey, D.J.; Truscott, T.G. «Photophysical properties of 5,10,15,20-tetrakis(*m*-hydroxyphenyl)porphyrin (*m*-THPP), 5,10,15,20-tetrakis(*m*-hydroxyphenyl)chlorin (*m*-THPC), and 5,10,15,20-tetrakis(*m*-hydroxyphenyl)bacteriochlorin (*m*-THBC): a comparative study», *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, **1999**, 325-328.
- (23) Gupta, G.; Morton, C.A.; Whitehurst, C.; Moore, J.V.; Mackie, R.M. *Brit. J. Dermatol.*, **1999**, *141*, 385.
- (24) Kolbb, A.J. «Assay technologies and detection methods. High Throughput Screening. The Discovery of Bioactive Substances», Marcel Dekker Inc., **1997**, pg. 274-454.
- (25) Landro, J.A.; Taylor, I.C.; Stirtan, W.G.; Osterman, D.G.; Kristie, J.; *et al.*, «HTS in the new millenium: The role of Pharmacology and flexibility», *J. Pharmacol. Toxicol.* **2000**, *44*, 273-289.
- (26) Cox, B.; Denyer, J.C.; Binnie, A.; Donnelly, M.C.; Evans, B.; *et al.* «Application of high-throughput screening techniques to drug discovery», *Prog. Med. Chem.* **2000**, *37*, 83-133.
- (27) Schreiber, S.L.; «Target-Oriented and Diversity-Oriented Organic Synthesis in Drug Discovery», *Science*, **2000**, *287*, 1964-1969.
- (28) Martínez, E. J.; Owa, T.; Schreiber, S. L.; Corey, E. J. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, *96*, 3496.
- (29) Dolle, R.E.; Nelson Jr., K.H.; *J. Combinatorial Chem.* **1999**, *1*, 235.

- (30) Mannhold, R.; Kubinyi, H.; Timmerman, H. «Handbook of molecular descriptors. Methods and Principles in Medicinal Chemistry», Wiley-VCH, **2000**.
- (31) Nicolau, K.; Pfefferkorn, J.; Schuler, F.; Roecker, A.; Cao, G. *et al.* «Combinatorial synthesis of novel potent inhibitors of NADH: ubiquinone oxidoreductase» *Chem. Biol.* **2000**, *7*, 979-992.
- (32) Willett, P.; «Chemoinformatics: similarity and diversity in chemical libraries», *Curr. Opin. Biotechnol.* **2000**, *11*, 85-88.
- (33) Druker, B.J. Lydon, N.B.; «Lessons learned from the Development of an abl Tyrosine Kinase Inhibitor for Chronic Myelogenous Leukemia», *J. Clin. Invest.* **2000**, *105*, 3.
- (34) Cragg, G.M.; Newmann, D.J. «Antineoplastic agents from natural sources: achievements and future directions», *Expert Opin. Investig. Drugs*, **2000**, *9*, 2783-2797.
- (35) Weng, G. *et al.* «Complexity in Biological Signalling Systems», *Science*, **1999**, *284*, 92-96.
- (36) Sportsman, J.R.; Lee, S.K.; Dilley, H.; Bukar, R. «Fluorescence Polarization. High Throughput Screening, The Discovery of Bioactive Substances», Marcel Dekker Inc. **1997**, pg. 389-399.
- (37) Seethala, R.; Menzel, R. «A fluorescence polarization competition immunoassay for tyrosine kinases» *Anal. Biochem.* **1998**, *255*, 257-262.
- (38) Lipinski, C.A.; Lombardo, F.; Dominy, B.W.; Feeney, P.J. *Adv. Drug Delivery Rev.* **2001**, *46*, 1.
- (39) Smith, D.; «Absorption and distribution as factors in drug design», en «Medicinal Chemistry into the millenium»; Campell, M.H.; Blabrough, I.S. (ed.), The Royal Society of Chemistry, **2001**, pg. 331-344.
- (40) Taillardat-Bertschingen, A.; Carrupt, P-A.; Barbato, F.; Testa, B. «Immobilized Artificial Membrane HPLC in Drug Research», *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 655.
- (41) Balimane, P.V.; Chong, S.; Morrison, R.A. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*, **2001**, *44*, 301-312.
- (42) Nuwaysir, E.F.; Bittner, M.; Trent, J.; Barrett, J.C.; Afshaeri, C.A. «Microarrays and toxicology: The advent of toxicogenomics», *Mol. Carcinog.* **1999**, *24*, 153-159.
- (43) Brinkmann, U.; Roots, I.; Eichelbann, M. «Pharmacogenetics of the human drug-transporter gene MDR1: impact of polymorfism on pharmacotherapy», *Drug Discovery Today*, **2001**, *6*, 835-839.
- (44) Kuehl, P.; Zhang, J.; Liu, Y. Assem, M.; Schueetz, J.; Watkins, P.B.; Daly, A.; Wrighton, S.A. *et al.* «Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expresion», *Nat. Genet.* **2001**, *27*, 383-391.

- (45) Nicholson, J.K.; Lindon, J.C.; Holmes, E. «Metabolomics: understanding the metabolic responses of living systems to pathophysiological stimuli via multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data», *Xenobiotica*, **1999**, 29, 1181-1189.
- (46) Gaime, S.P.; Rubin, I.J. «Primary Pulmonary Hypertension», *Lancet*, **1998**, 352, 719.
- (47) a) Nauser, T.D.; Stites, S.W. *Ann. Farm. Physician*, **2001**, 63, 1789. b) Dasgupta, F.; Mukherjee, A. K.; Gangadhar, N. «Endothelin Receptor Antagonists. An Overview», *Current Medicinal Chemistry*, **2002**, 9, 549-575.
- (48) Mayer, T.U. *et al.*, *Science*, **1999**, 286, 971.
- (49) Wolf, C.R.; Henderson, C.J. «Use of transgenic animals in understanding molecular mechanisms of toxicity», *J. Pharm. Pharmacol.* **1998**, 50, 564-574.
- (50) Dragovich, P.S.; Webber, S.E.; Fuhrman, S.A.; Patick, A.K.; Matthews, D.A.; Prins, T.J.; Zhou, R.; Marakovits, J.T.; Ford, C.E.; Meador, J.W.; Ferre, R.A.; Worland, S.T.; «Structure-based design of irreversible, peptidomimetic human Rhinovirus 3C protease inhibitors», en «Medicinal Chemistry into the millennium»; Campell, M.H.; Blabrough, I.S. (ed.), The Royal Society of Chemistry, **2001**, pg. 223-232.
- (51) Anand, K.; Ziebuhr, J.; Wadhwani, P.; Mesters, J.R.; Hilgenfeld, R., «Coronavirus Main Proteinase (3CL^{pro}) Structure: Basis for Design of anti-SARS Drugs», *Scienceexpress*/www.scienceexpress.org/ 13 May 2003, Page 1/ 10.1126/science.1085658.
- (52) a) Giménez, G., «Hitos en la génesis y evolución del concepto de proteína: de las albúminas a las proteínas sin plegamiento», y referencias allí mencionadas; Real Academia Nacional de Farmacia, Madrid, **2004**. b) Weir, M. «Alta tecnología para los nuevos fármacos», *Diario Médico*, 25 de Junio de **2001**, pg. 68.
- (53) Henry, C.M.; «Systems Biology», *Chemical & Engineering News*, **2003**, 81, 45-55.
- (54) Drews, J.; «Drug Discovery: A Historical Perspective»; *Science*, **2000**, 287, 1960-1964.
- (55) Mullin, R.; «Biotech vies for position» *Chemical & Engineering News*, **2003**, 81, 27-38.
- (56) Henry, C.M. «The Chemical Side of the Double Helix», *Chemical & Engineering News*, **2003**, 81, 49-55.
- (57) Baselga, J.; Mendelson, J.; «Monoclonal Antibodies Directed Against Growth Factor Receptors», en «Principles and Practice of the Biologic Therapy of Cancer», S.A. Rosenberg (Ed.), 3.^a edición, Lippincott Williams & Wilkins, **2000**, pg. 475.
- (58) Luong, B.T.; Chong, B.S.; Lowder, D.M. «Treatment options for rheumatoid arthritis: Celecoxib, Leflunamide, Etanercept and Infliximab», *Ann. Pharmacother.*, **2000**, 34, 743.

- (59) Egrie, J.C.; Strickland, T.W.; Lane, J.; Trail, G.; Lin, F.K.; Browne, J.K.; Hines, D.K. «Characterization and biological effects of recombinant human erythropoietin», *Immunobiol.*, **1986**, *172*, 213-224.
- (60) Armstrong, G.S.; «Interferencia de ARN: Enseñar a las células nuevos trucos antivirales», *American Foundation for AIDS Research*, **2003**, *3*, 3-5.
- (61) McCullagh, K. «Discovery Strategy. Green Fingers, Molecular Pathology and Art of Drug Design», *Drug Discovery World*, Summer **2003**, 9-19.