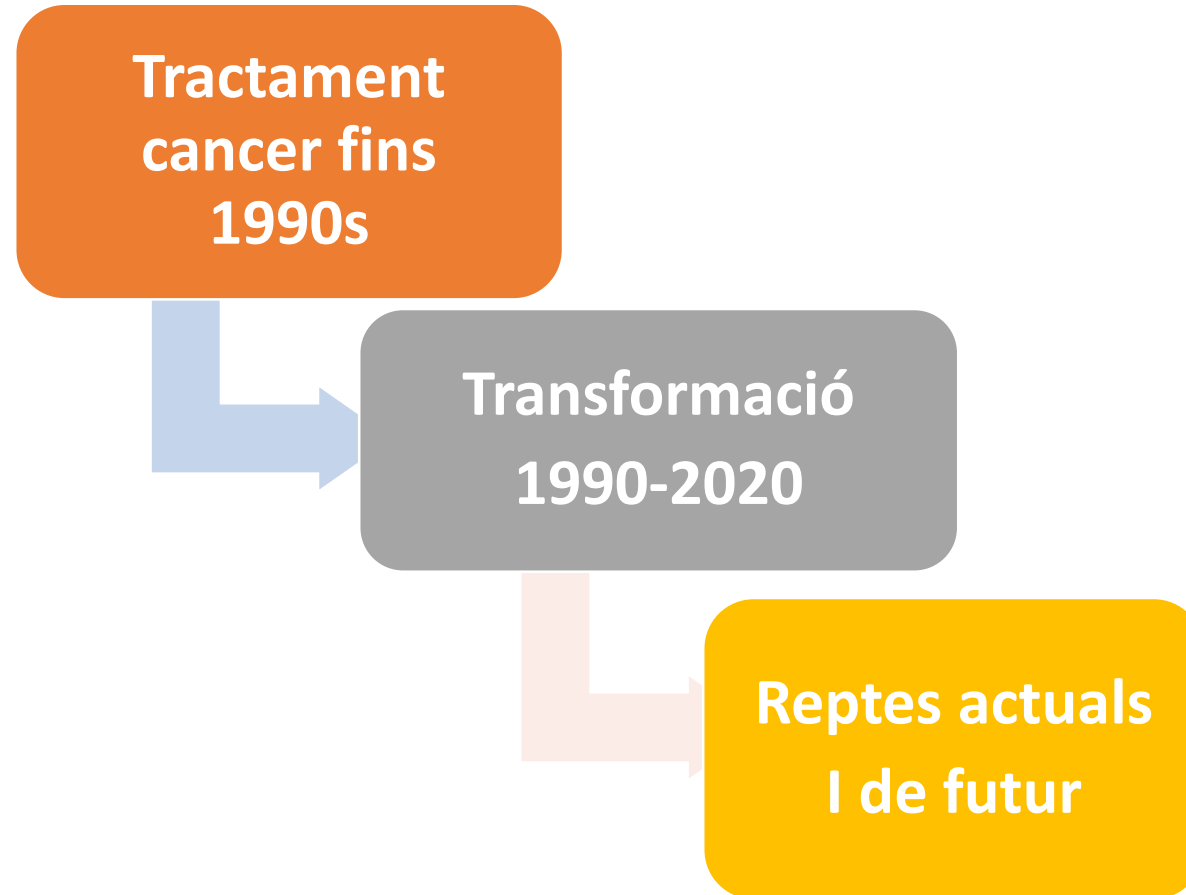


Dianes d'interès per al disseny de nous agents antitumorals

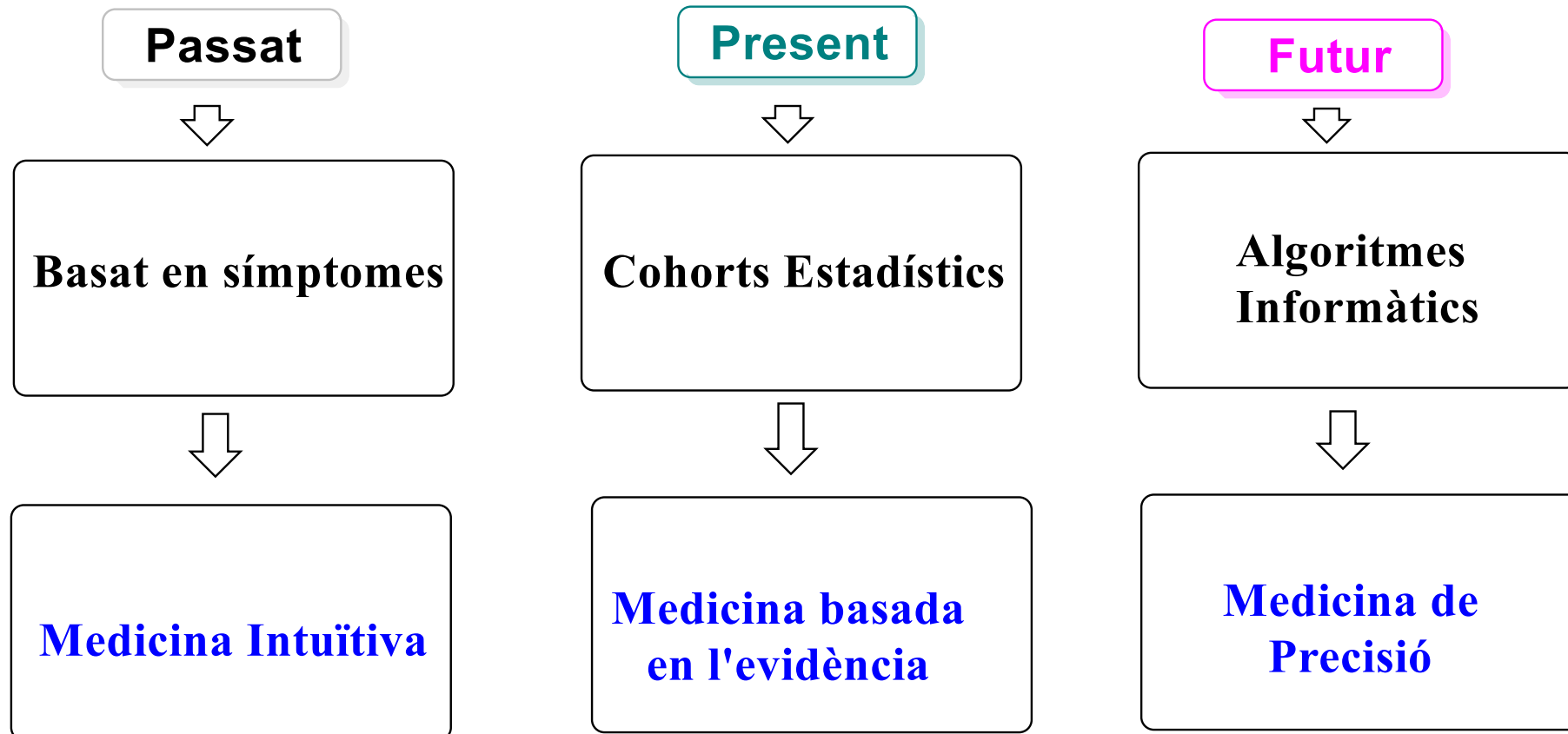
Maria Dolors Pujol

Barcelona 11 de maig 2023

Càncer: tractament



Càncer: tractament



Càncer: supervivència a nivell mundial



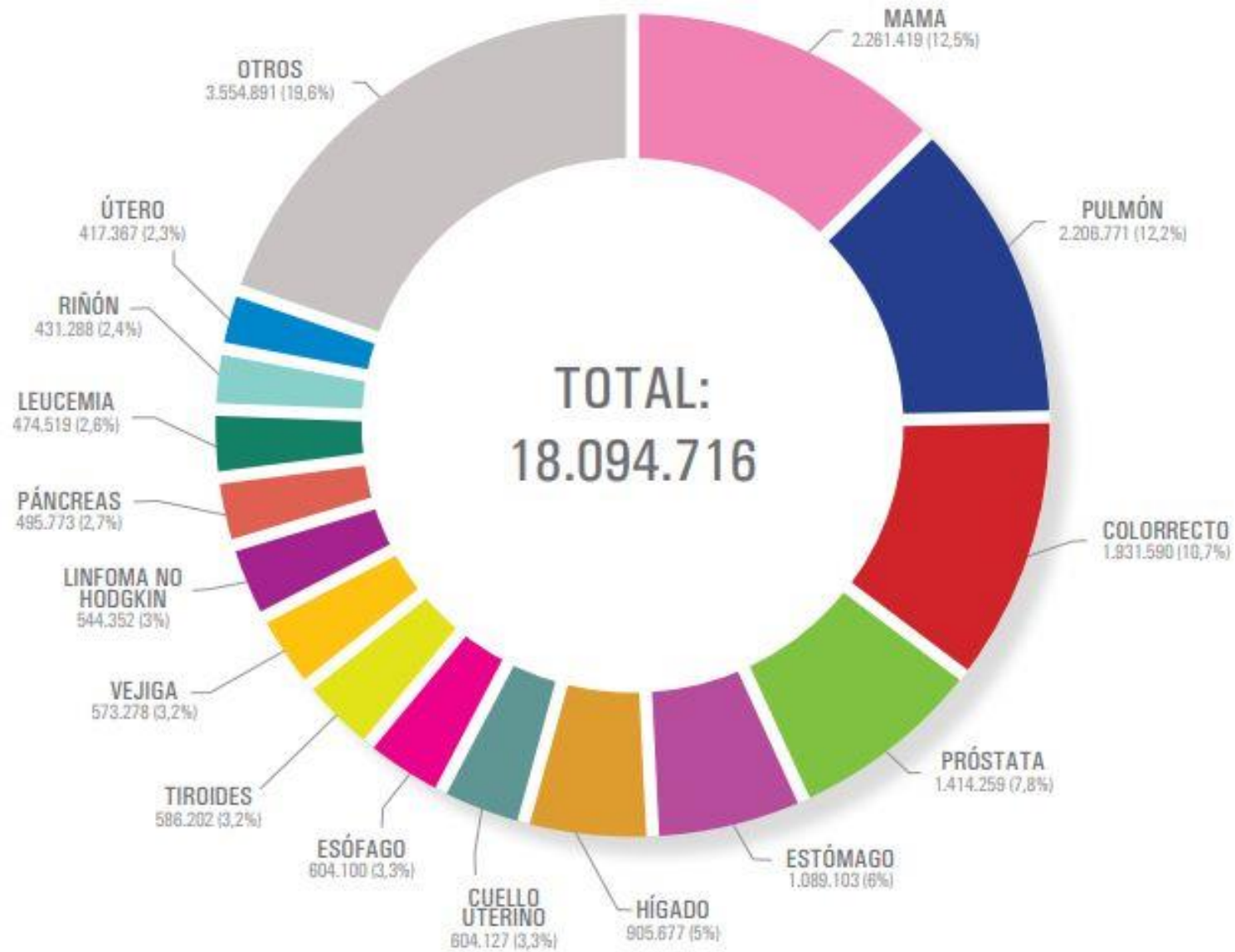
37,5 mil.lions
Sobreviuen als 5 anys de càncer

- Metàstasi

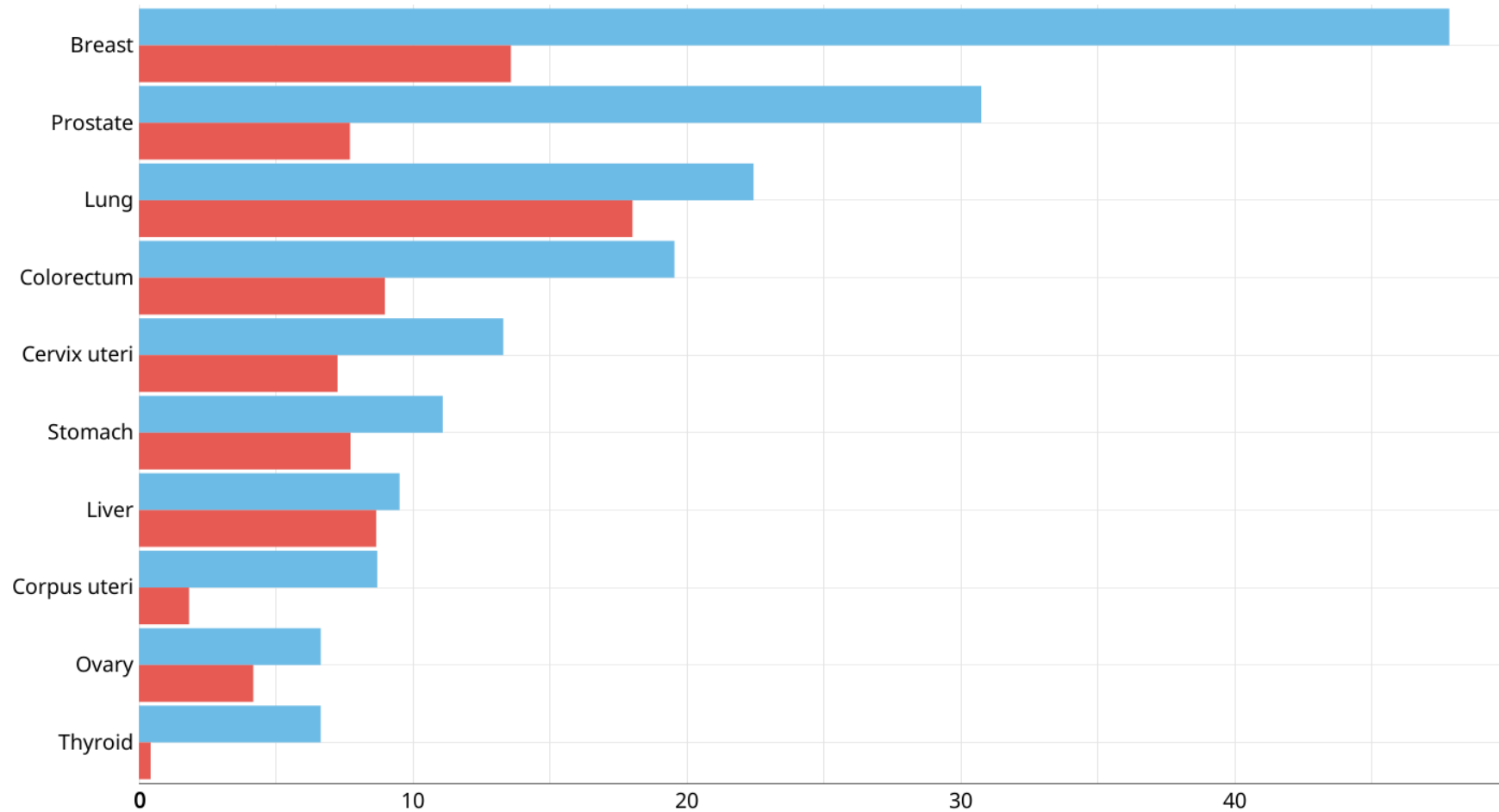
- Sistema Immunitari

- Resistència

Incidència càncer 2020
Estudis Globalcan 2022

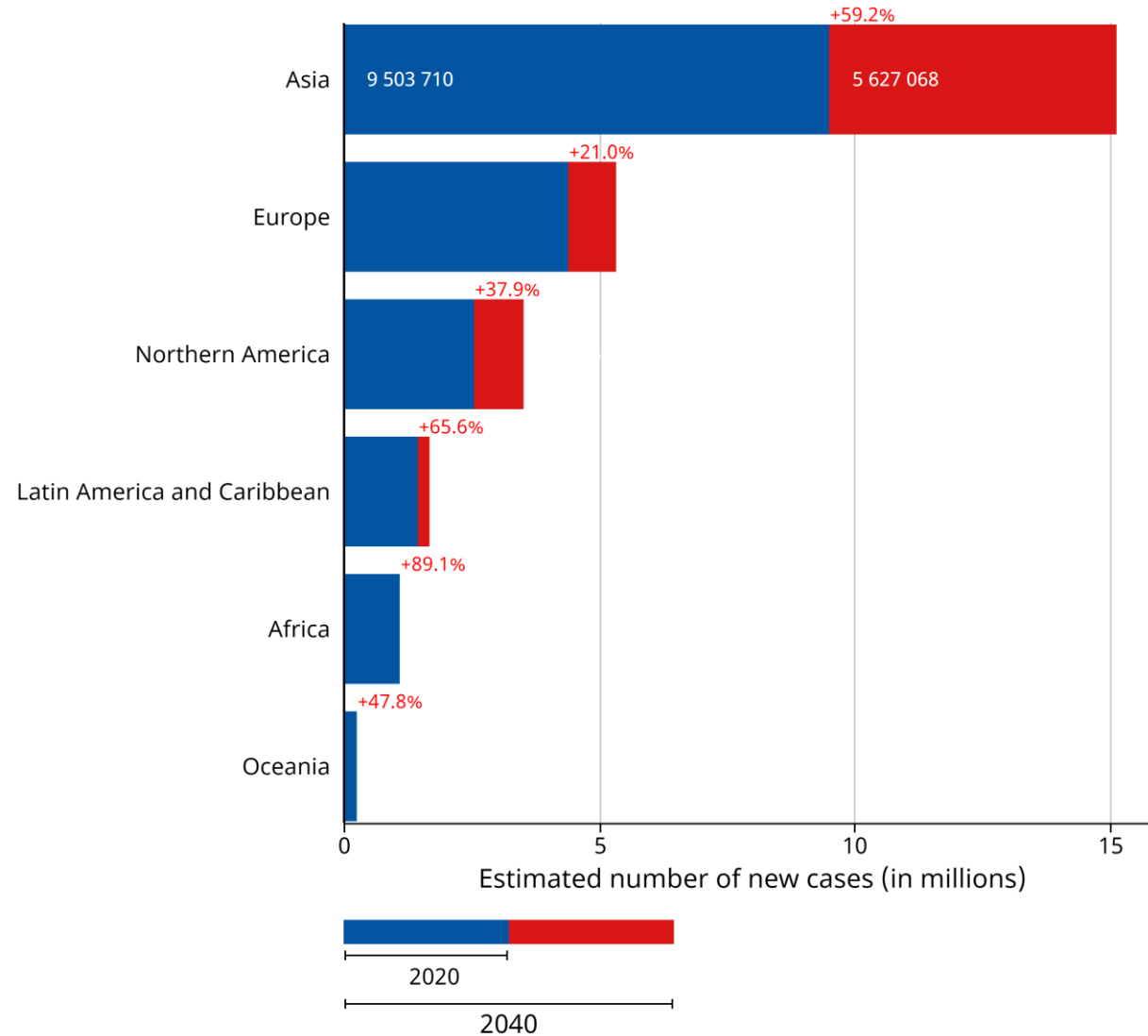


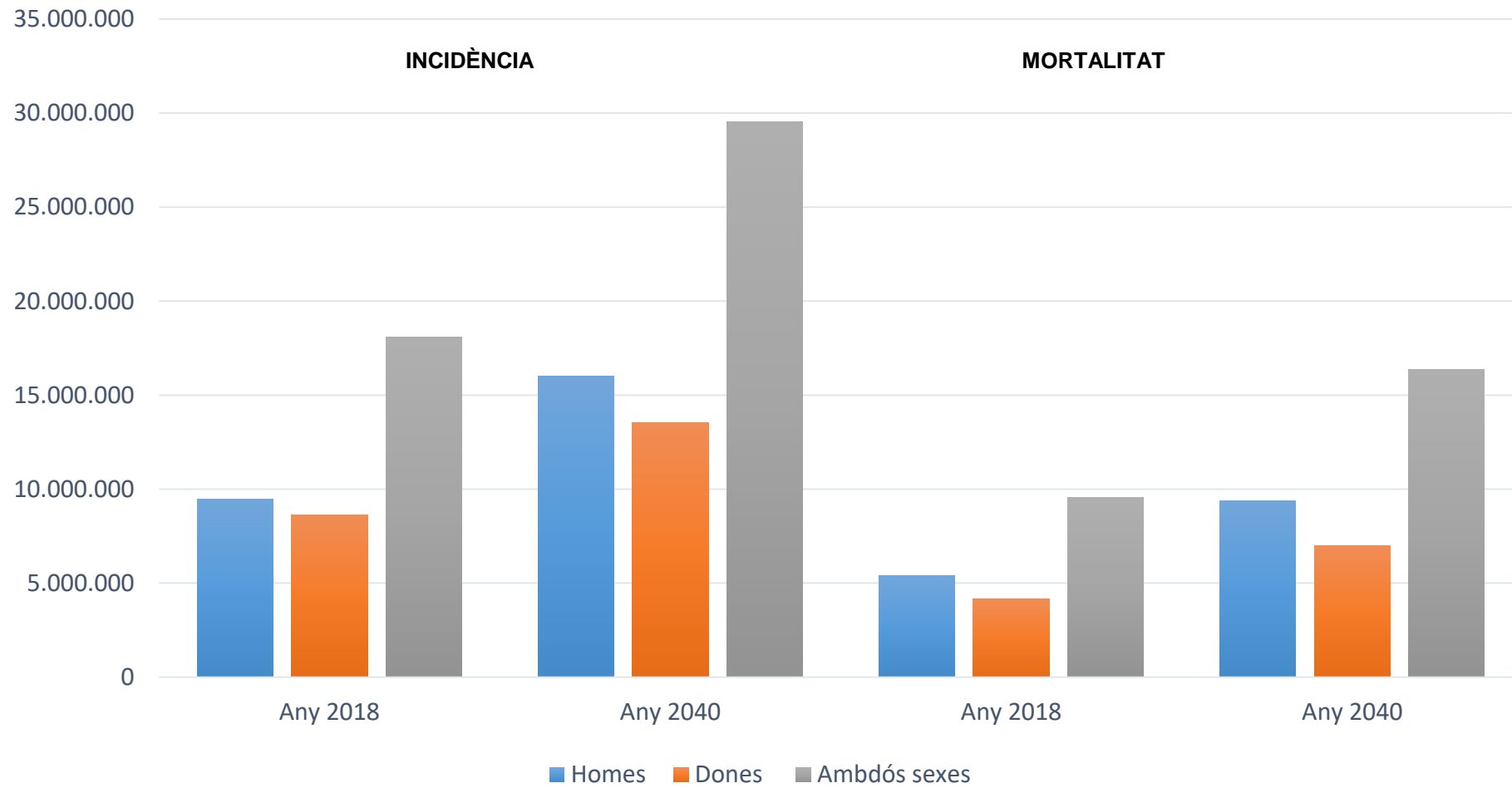
Estimated age-standardized incidence and mortality rates (World) in 2020, World, both sexes, all ages (excl. NMSC)



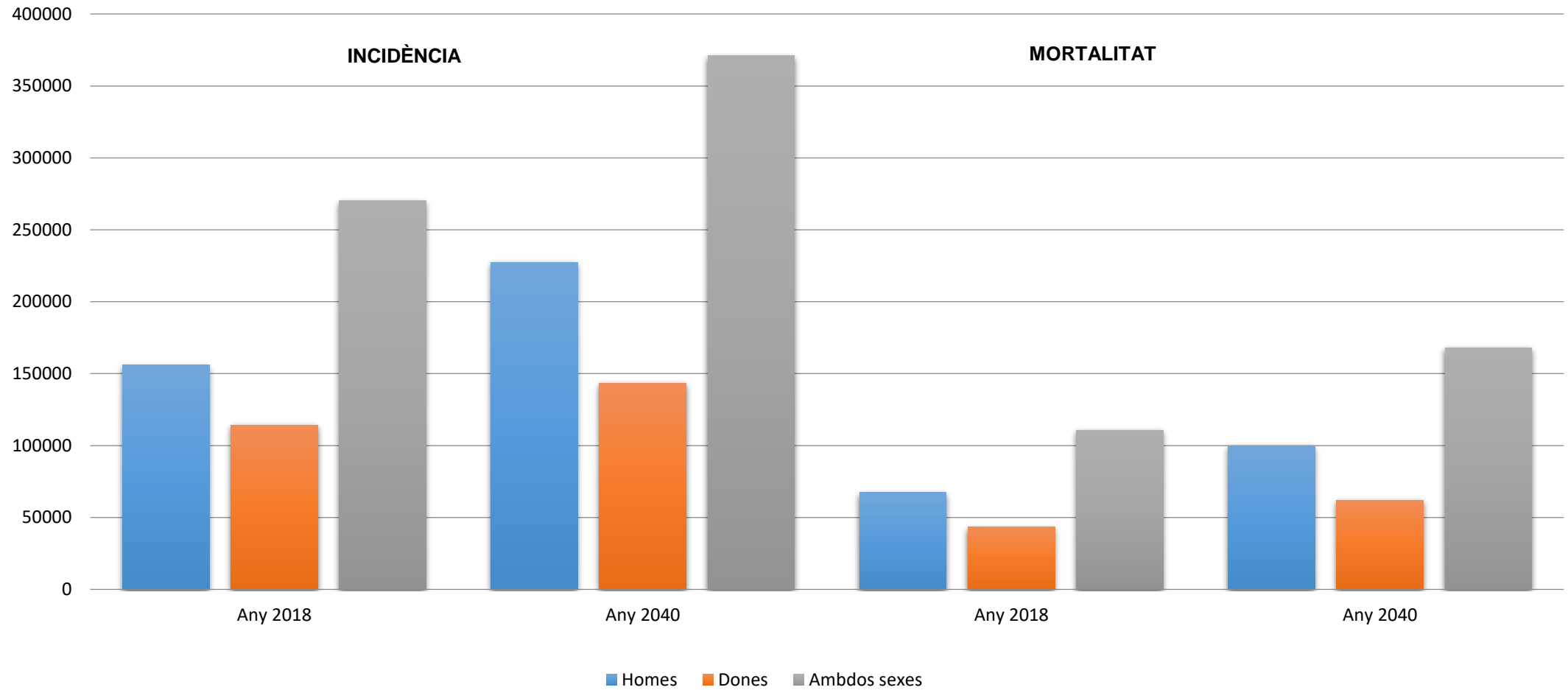
Data source: Globocan 2020
Graph production: Global Cancer Observatory (<http://gco.iarc.fr>)

Estimated number of new cases from 2020 to 2040, Both sexes, age [0-85+]
All cancers



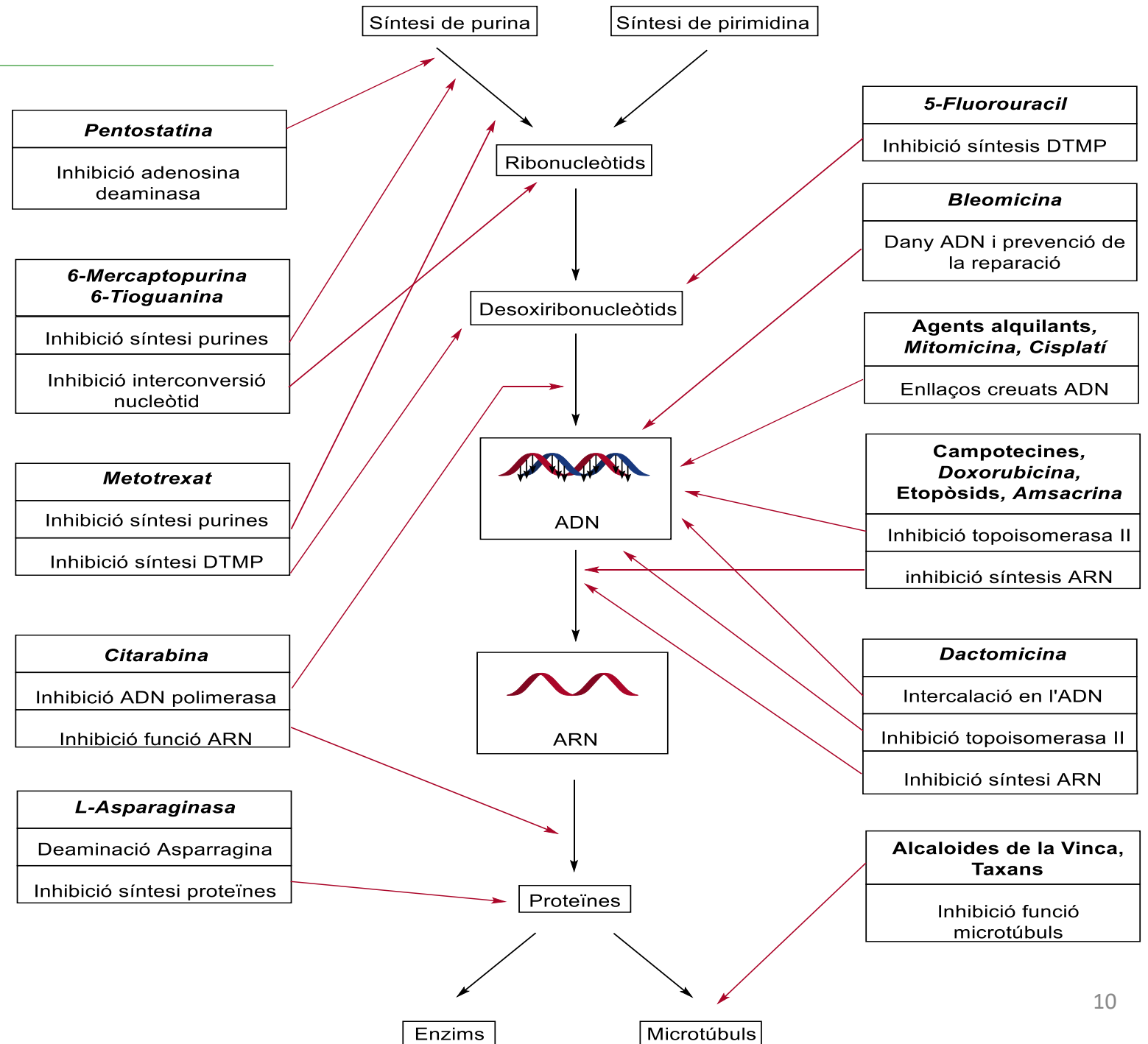


Estimació del número de casos nous i mortalitat per tumors en la **població mundial** per als anys 2018 i 2040³⁸

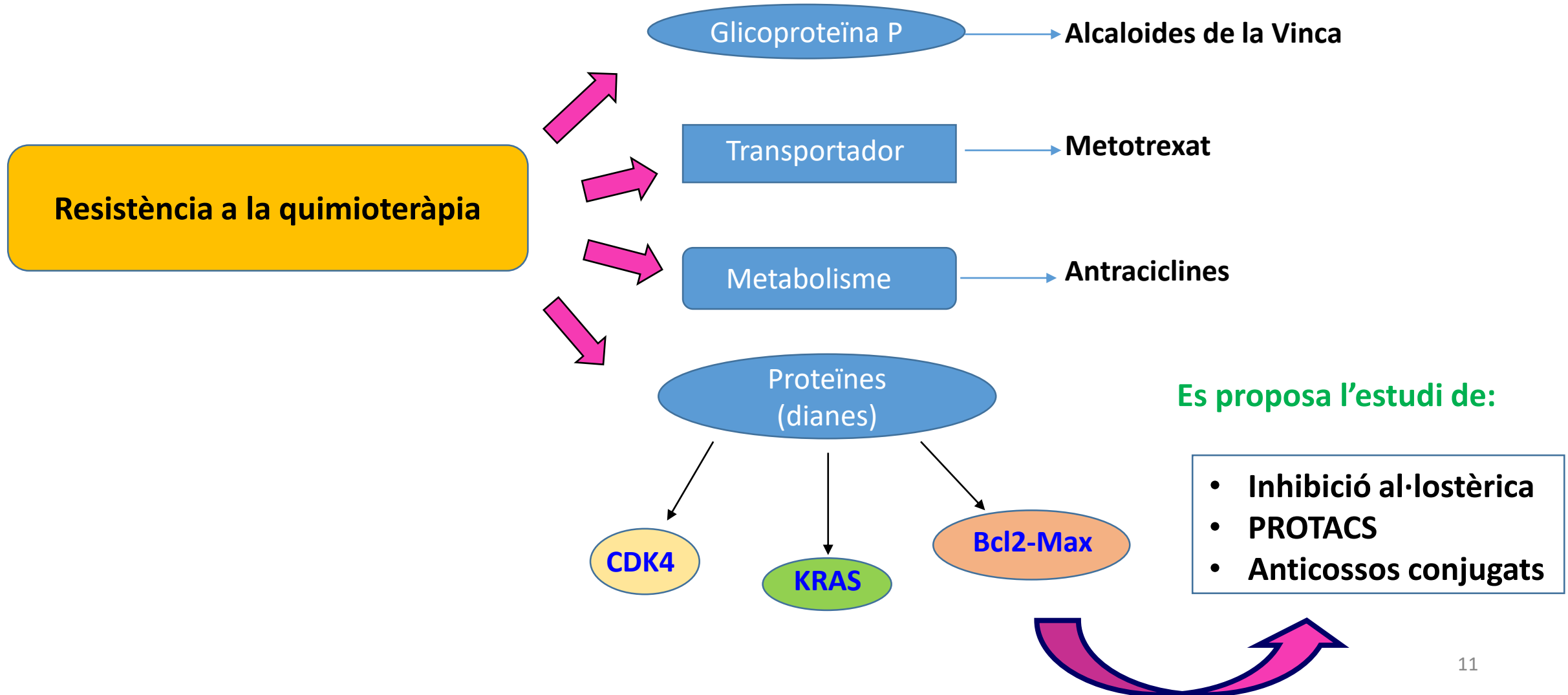


Estimació del numero de nous casos i mortalitat per tumors a **Espanya** per als anys 2018 i 2040⁷

Mecanisme d'acció de diferents quimioteràpics



Càncer: Resistència



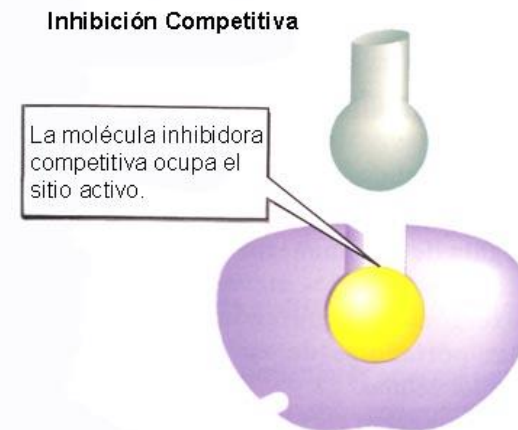
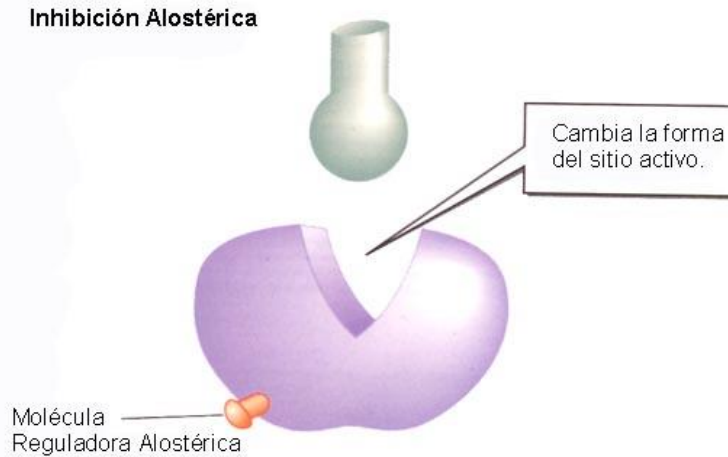
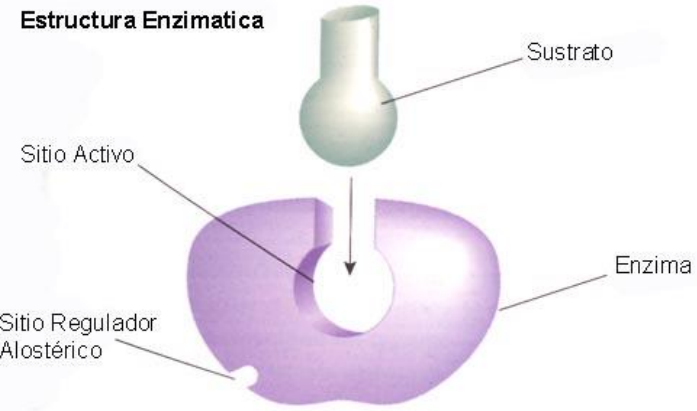
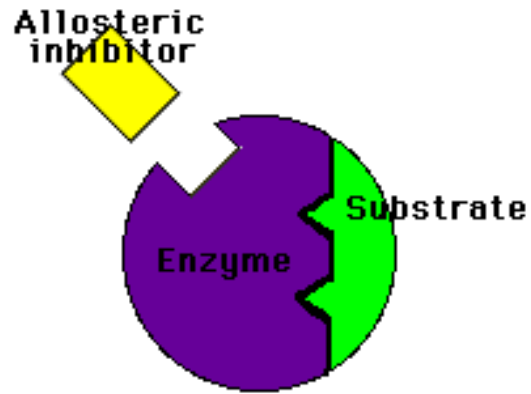
Les **teràpies dirigides (TDDM)** contra el càncer són fàrmacs o altres substàncies que bloquegen el creixement i la disseminació del càncer en interferir en molècules específiques ("blancs moleculars") que participen en el creixement, l'avenç i la disseminació del càncer.

Les teràpies dirigides contra el càncer s'anomenen algunes vegades "fàrmacs dirigits molecularment", "teràpies dirigides molecularment", "medicines de precisió".

Les teràpies dirigides són sovint **citostàtiques** (és a dir, bloquegen la proliferació de les cèl·lules tumorals), mentre que les substàncies ordinàries de quimioteràpia són **citotòxiques** (és a dir, destrueixen cèl·lules tumorals).

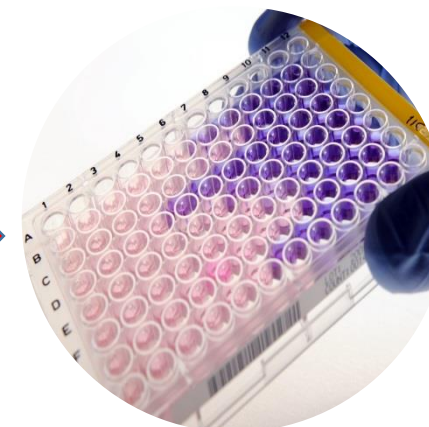
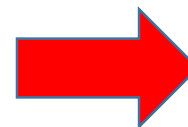
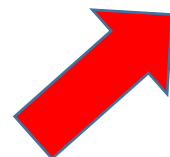
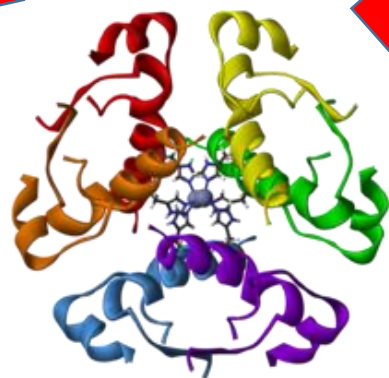
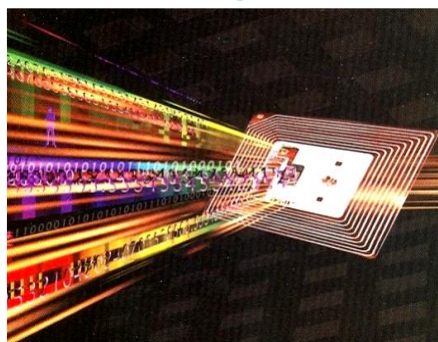
- **Teràpies hormonals**
- **Inhibidors de transducció de senyals**
- **Moduladors de l'expressió de gens**
- **Inductors d'apoptosi**
- **Inhibidors d'apoptosi**
- **Inhibidors de l'angiogènesi**
- **Immunoteràpies**

Inhibició enzimàtica al·lostèrica

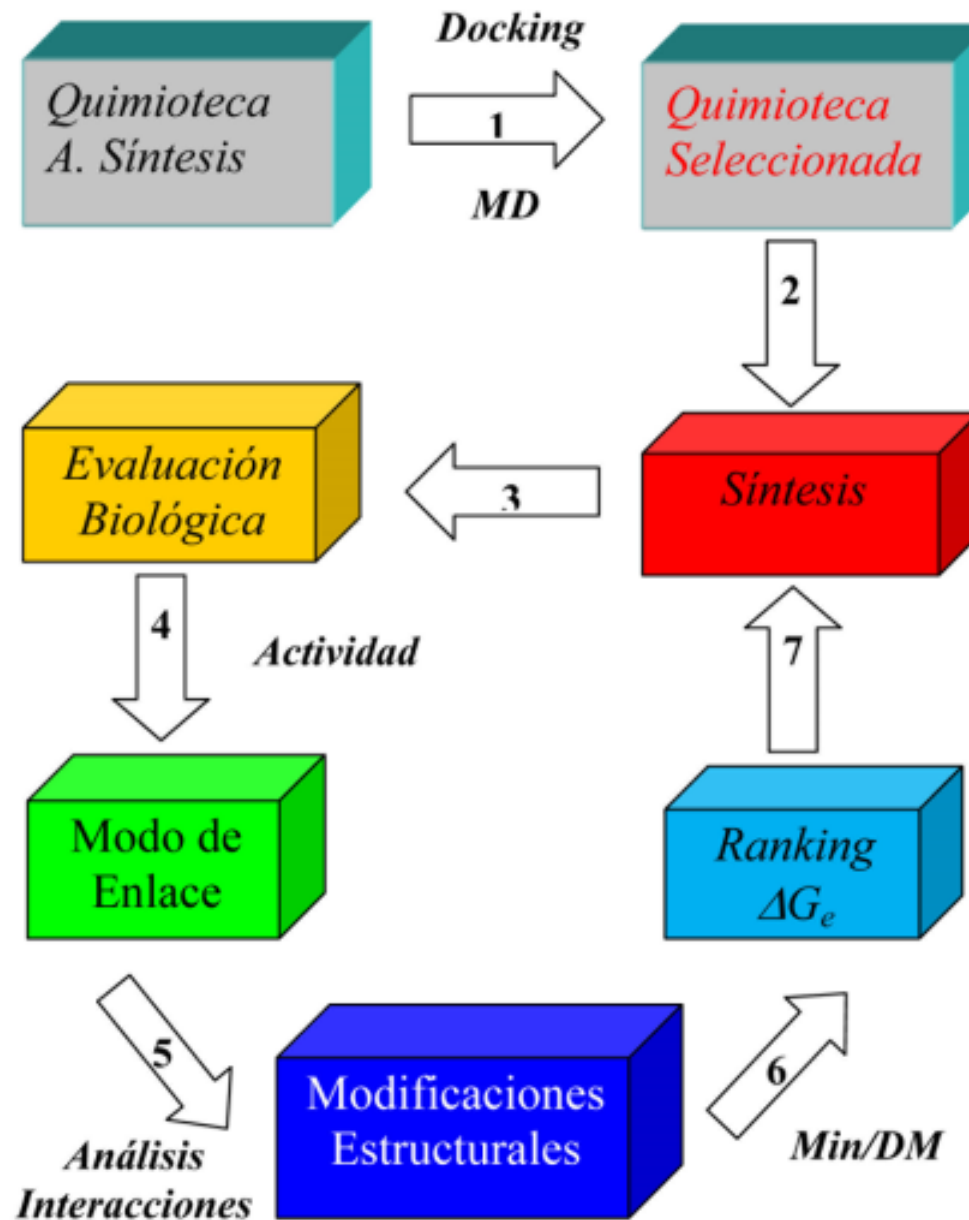
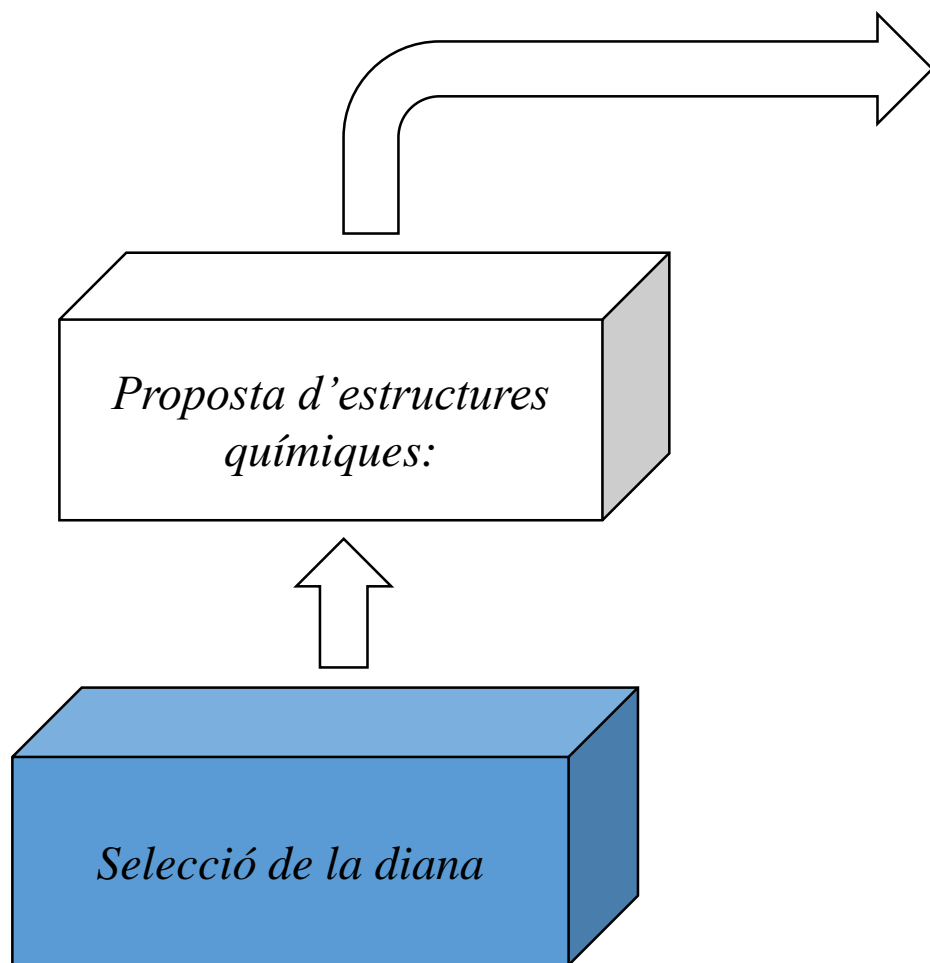


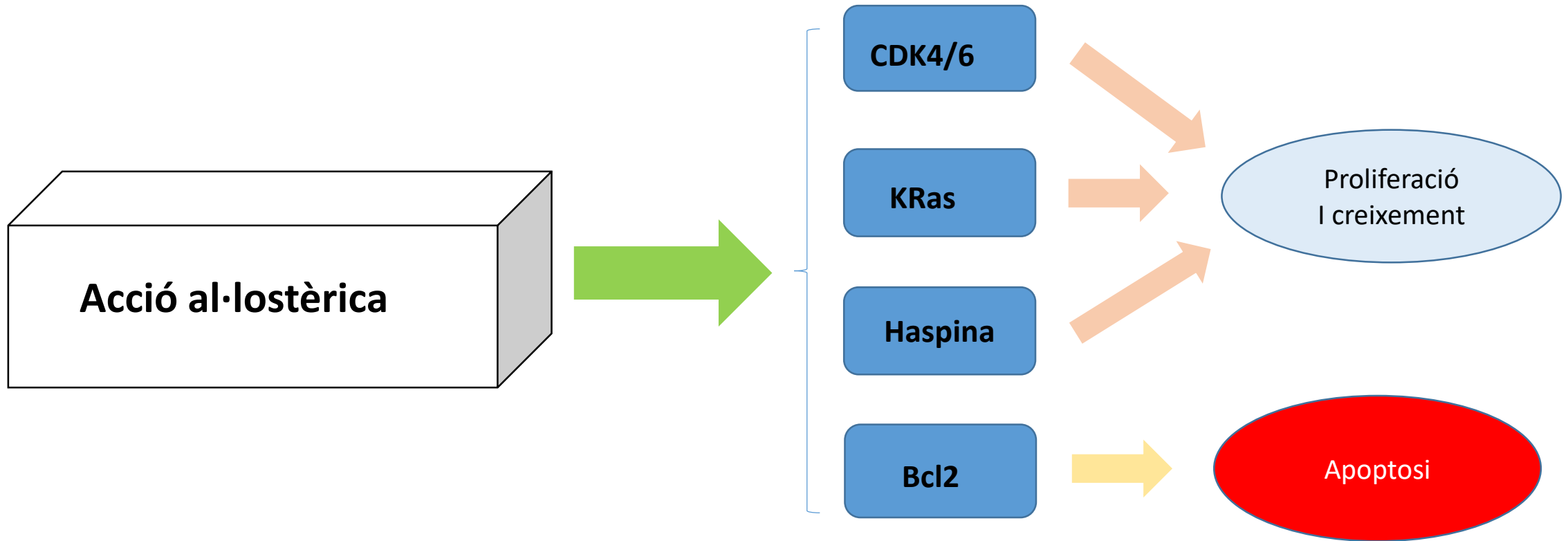
Biol vida en la Tierra, Audesirk et al. 2003
ISBN 970-26-0370-6

Disseny, síntesi i avaluació de nous agents antitumorals



Preparació nous agents antitumorals





CDK4/6

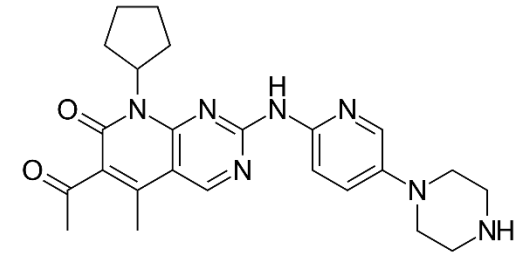
KRas

Haspina

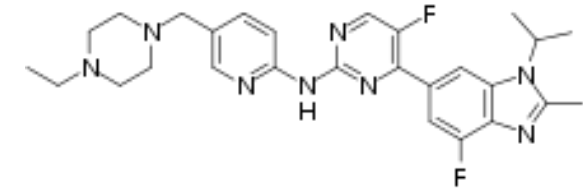
Bcl2

CDK4/6 és un mediador clau de la progressió del cicle cel·lular

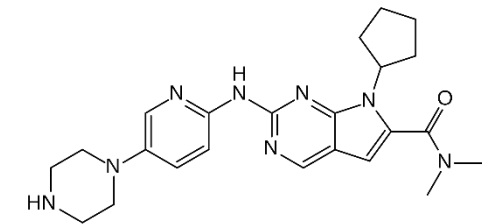
- ✓ Càncer de mama
- ✓ Melanoma
- ✓ Càncer de pàncrees



Palbociclib (2015)



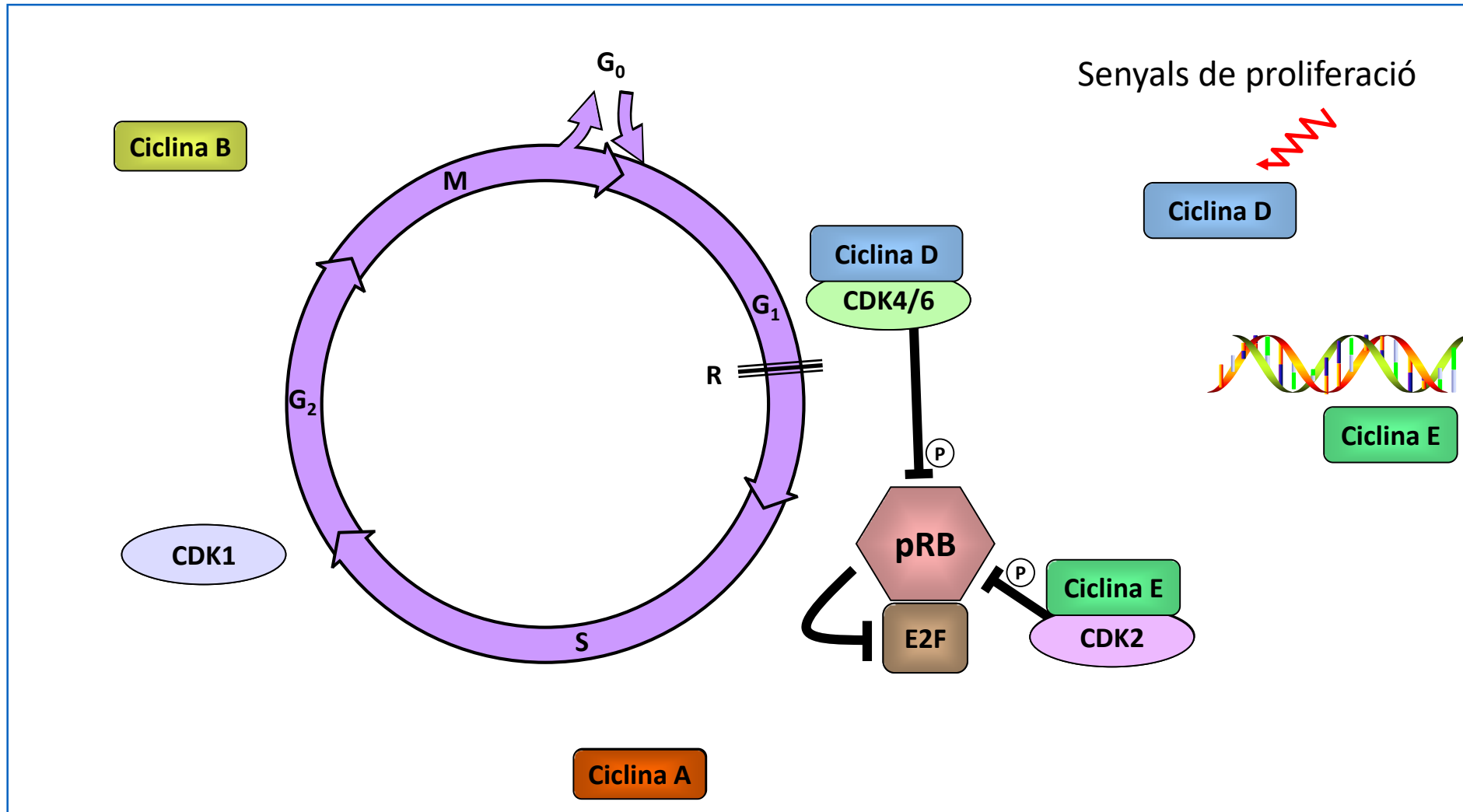
Ademaciclib (2015)

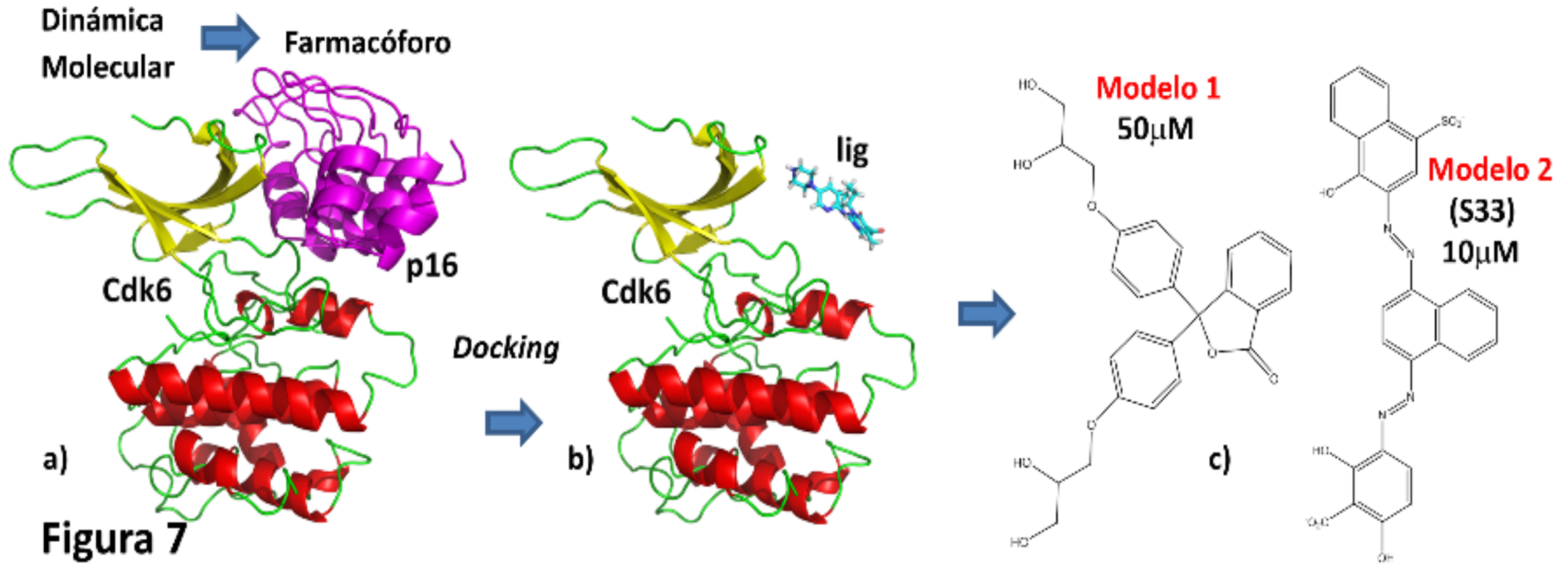


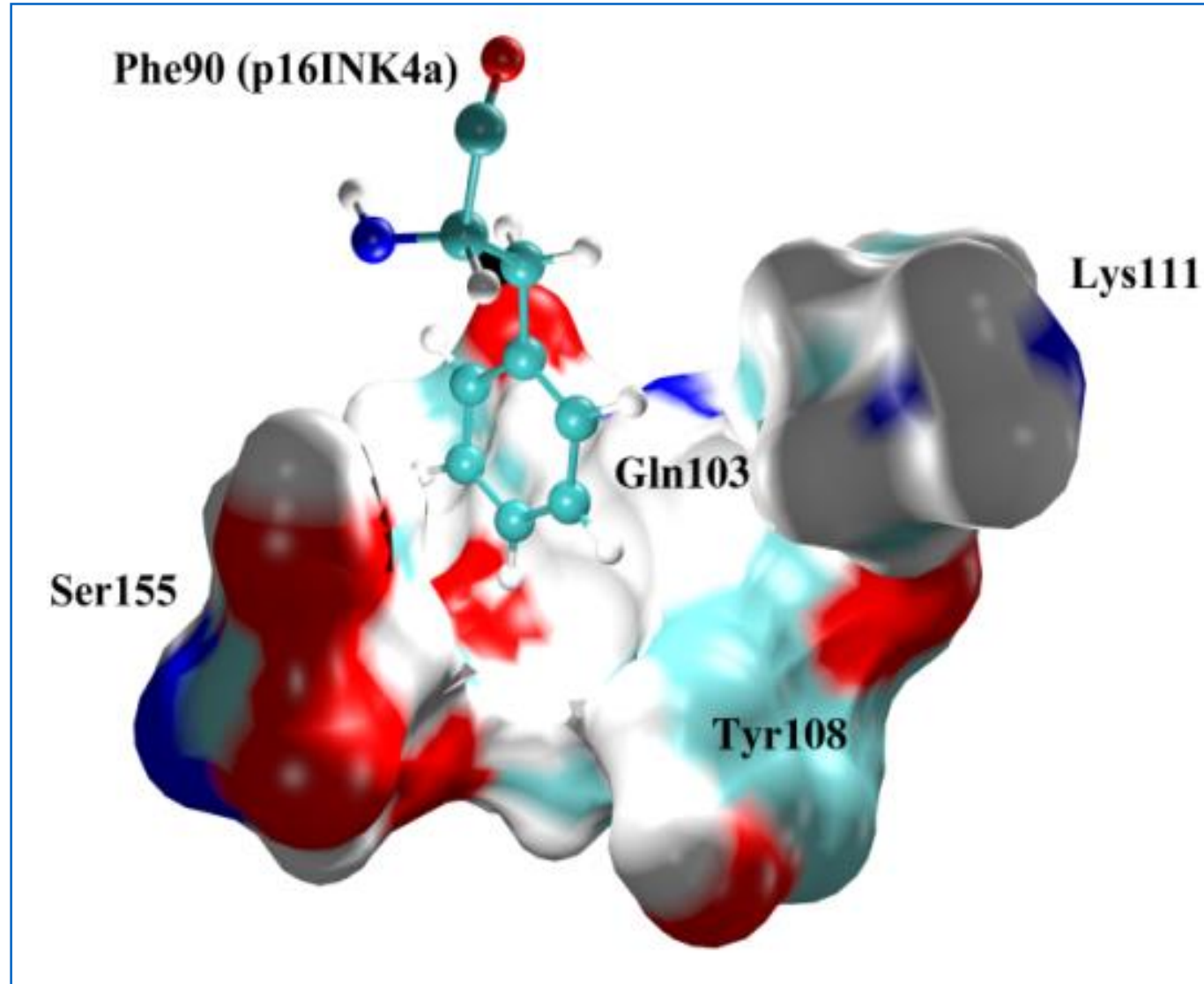
Ribociclib (2017)

Regulació del cicle cel·lular

➤ Les CDKs tenen un paper central en la regulació del cicle cel·lular.

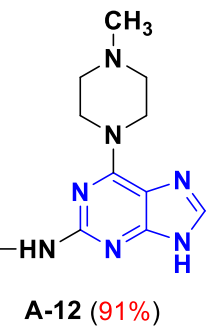
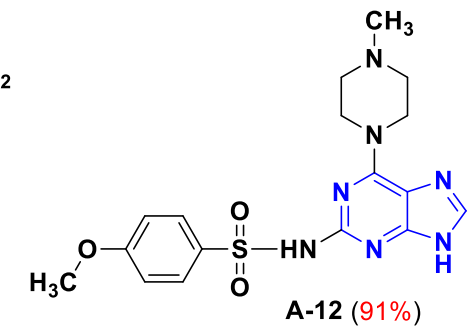
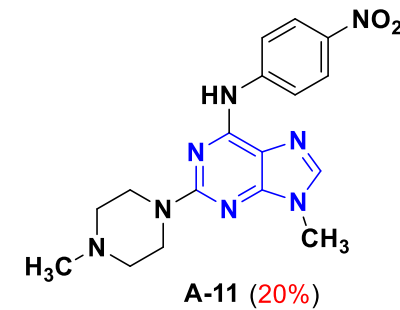
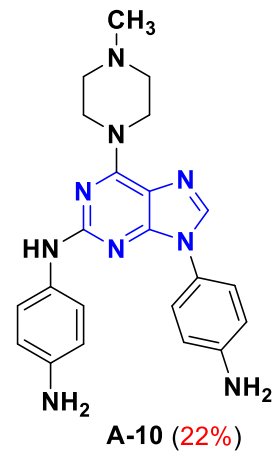
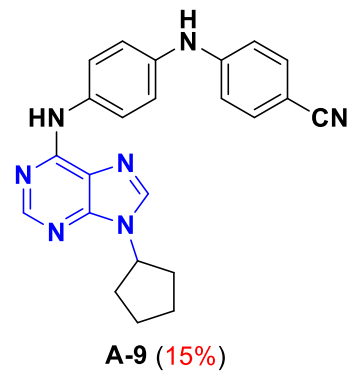
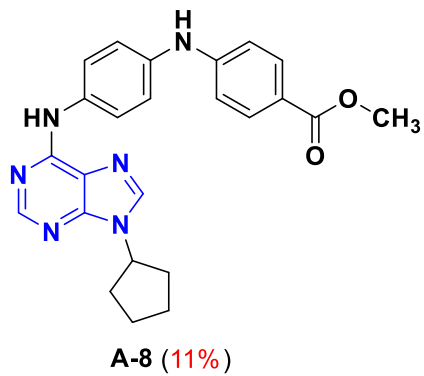
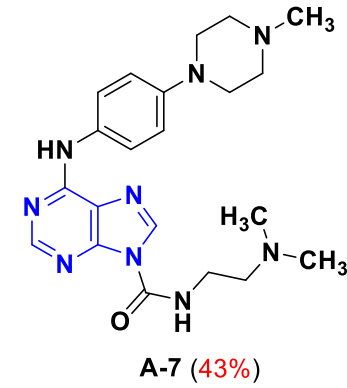
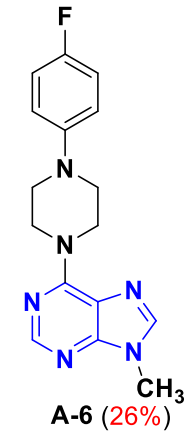
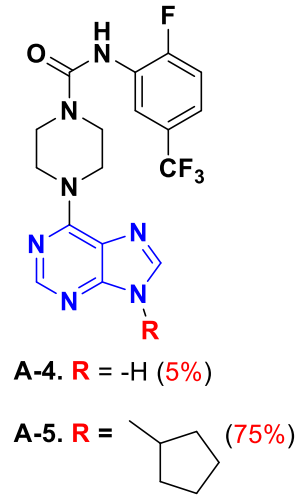
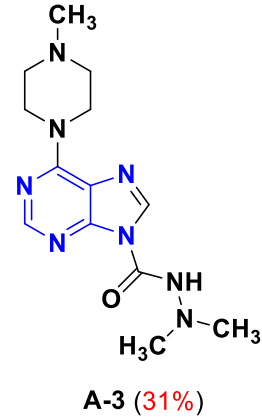
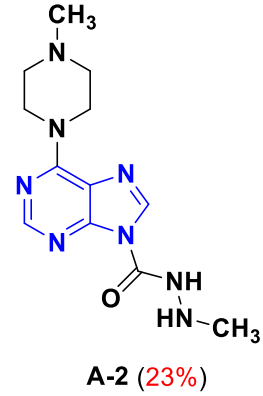
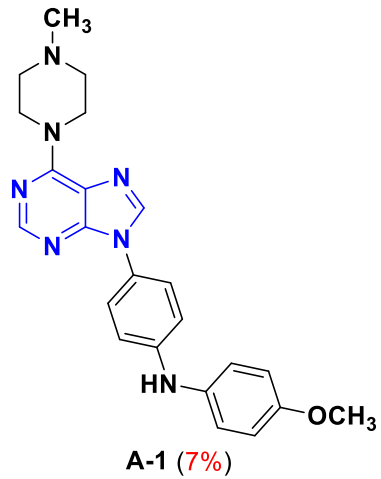






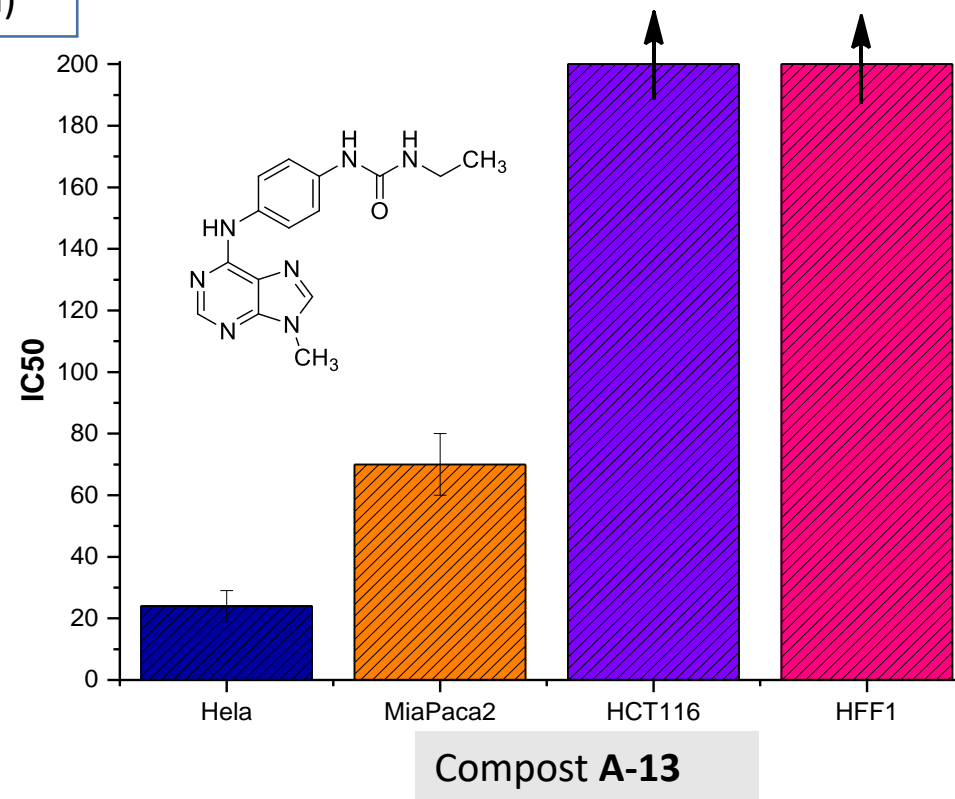
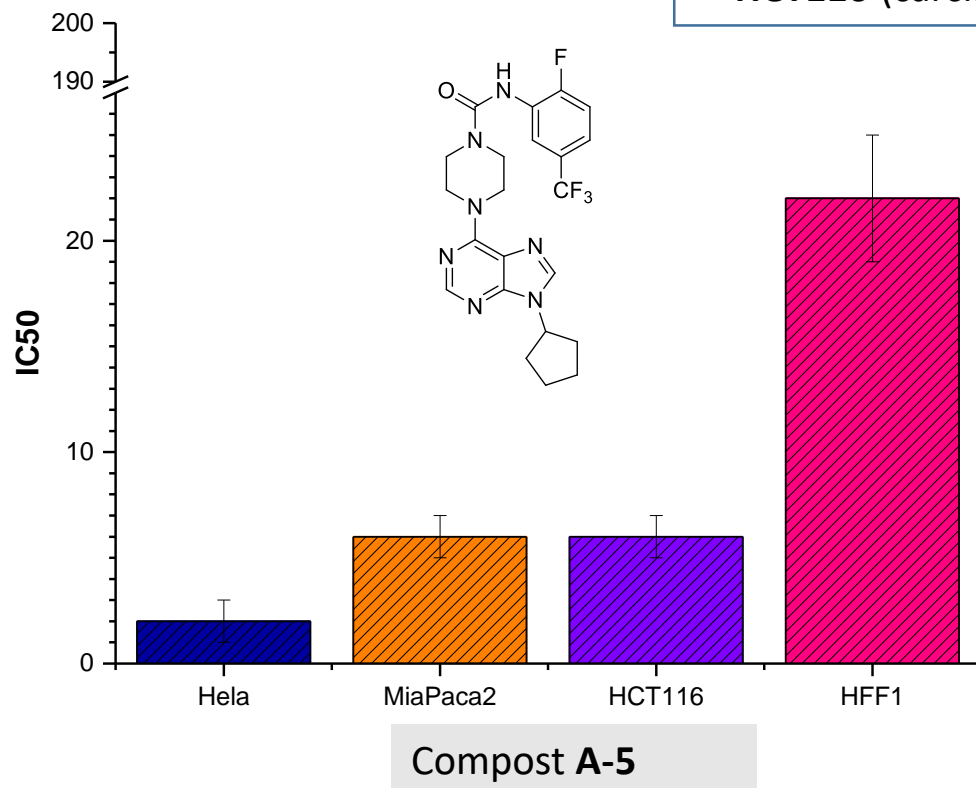
Modelització molecular (Dept. Química Física) es va obtenir l'estructura del farmacòfor per inhibir l'activitat de CDK4/6.

1. Purines: inhibició enzimàtica al·lostèrica CDK4/6

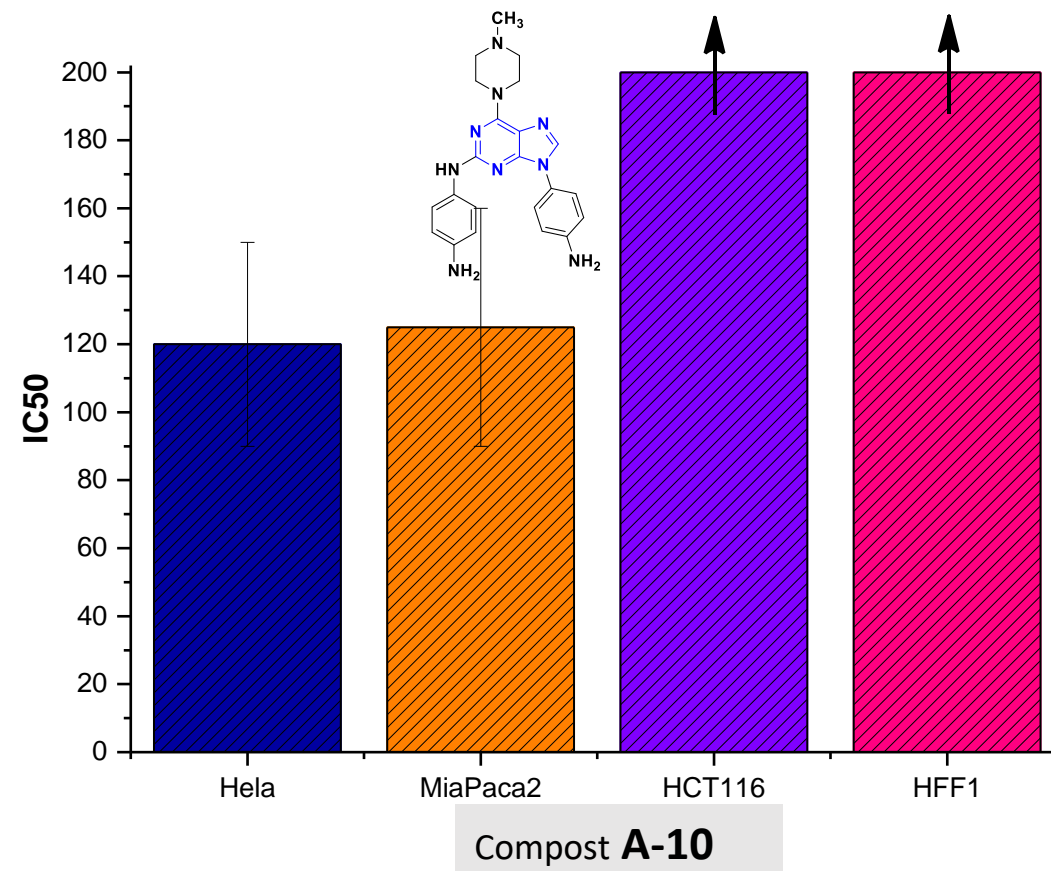
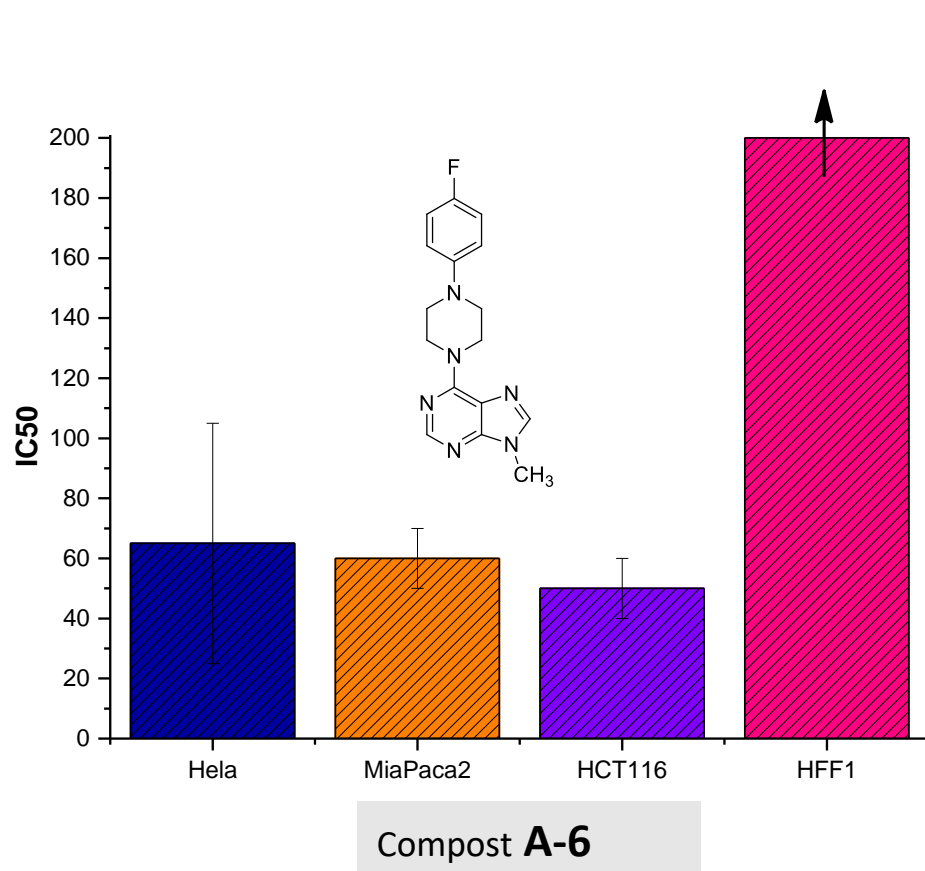


1. 2. Activitat antitumoral de purines substituïdes en cèl·lules

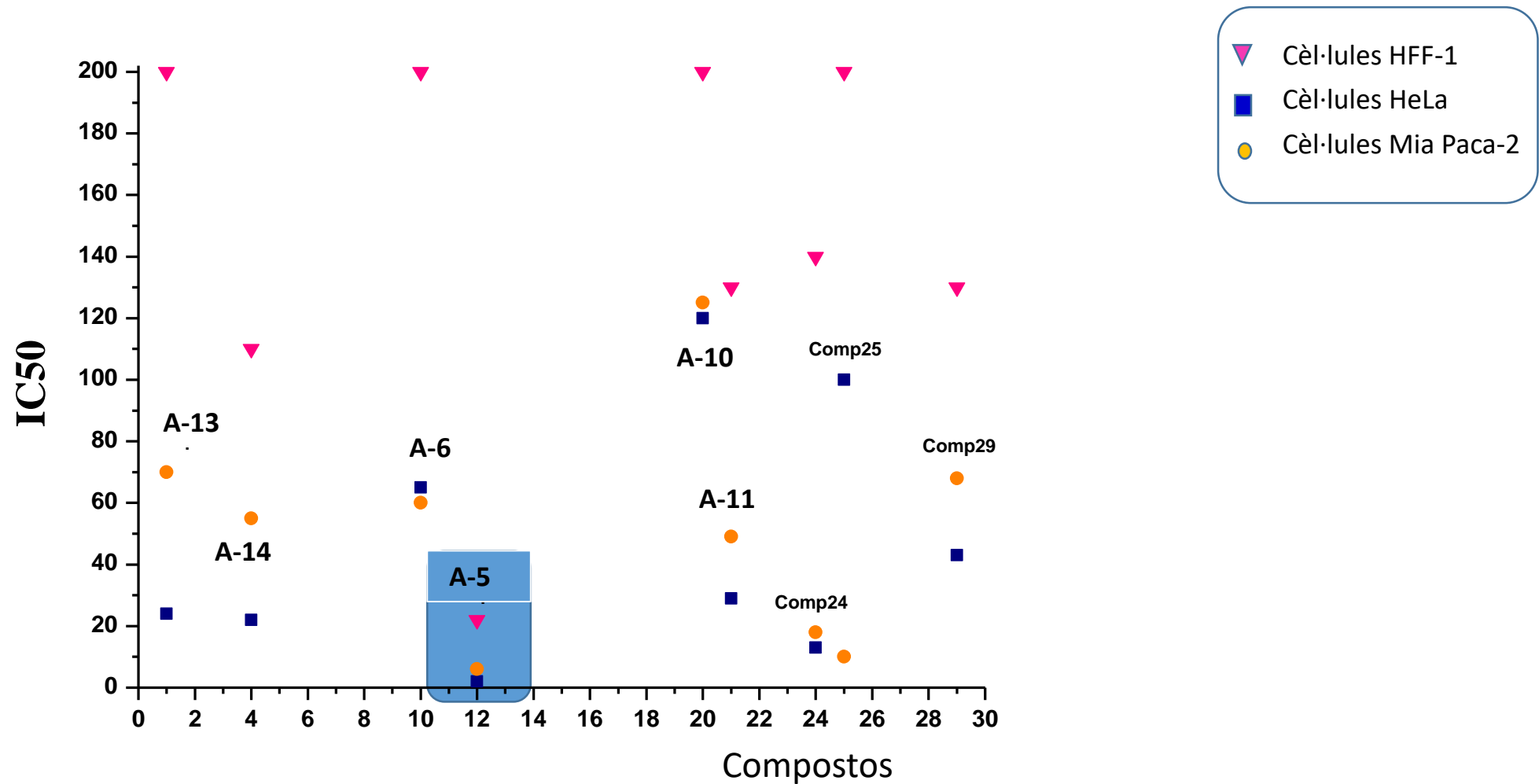
HeLa (càncer cervical)
MiaPaca2 (càncer pàncrees)
HCT116 (carcinoma colon)



1.2. Activitat antitumoral de purines substituïdes en cèl·lules

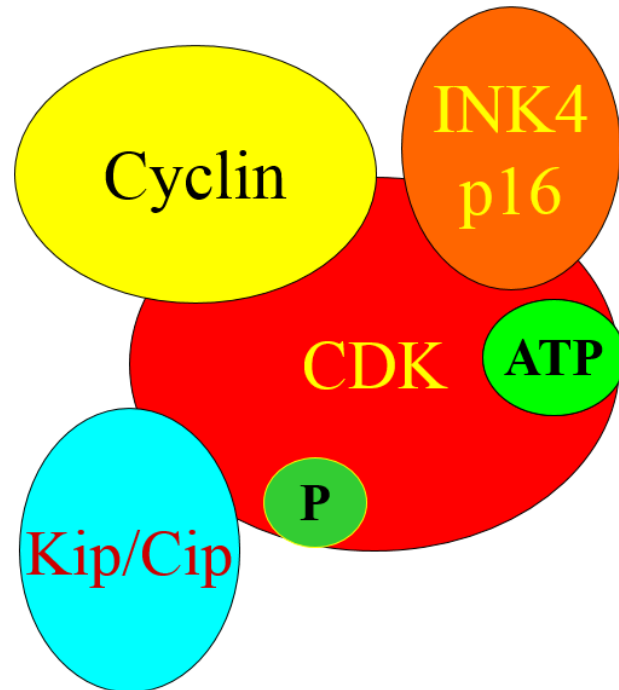


1.2. Activitat antitumoral de purines substituïdes en cèl·lules

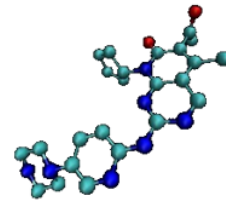


Representació dels compostos que presenten una activitat biològica diferent front a cèl·lules tumorals i no tumorals (HFF-1: Rosa; HeLa: blau; MIA Paca-2: taronja).

1.4. Mode d'acció de les purines substituïdes sobre CDK4/6

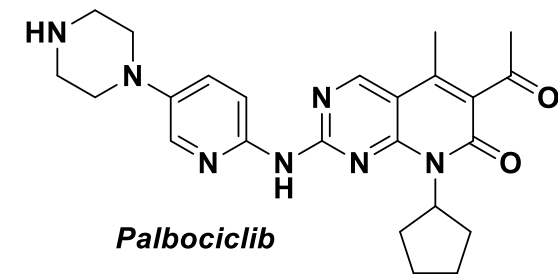


Crear un inhibidor competitiu de l'ATP?

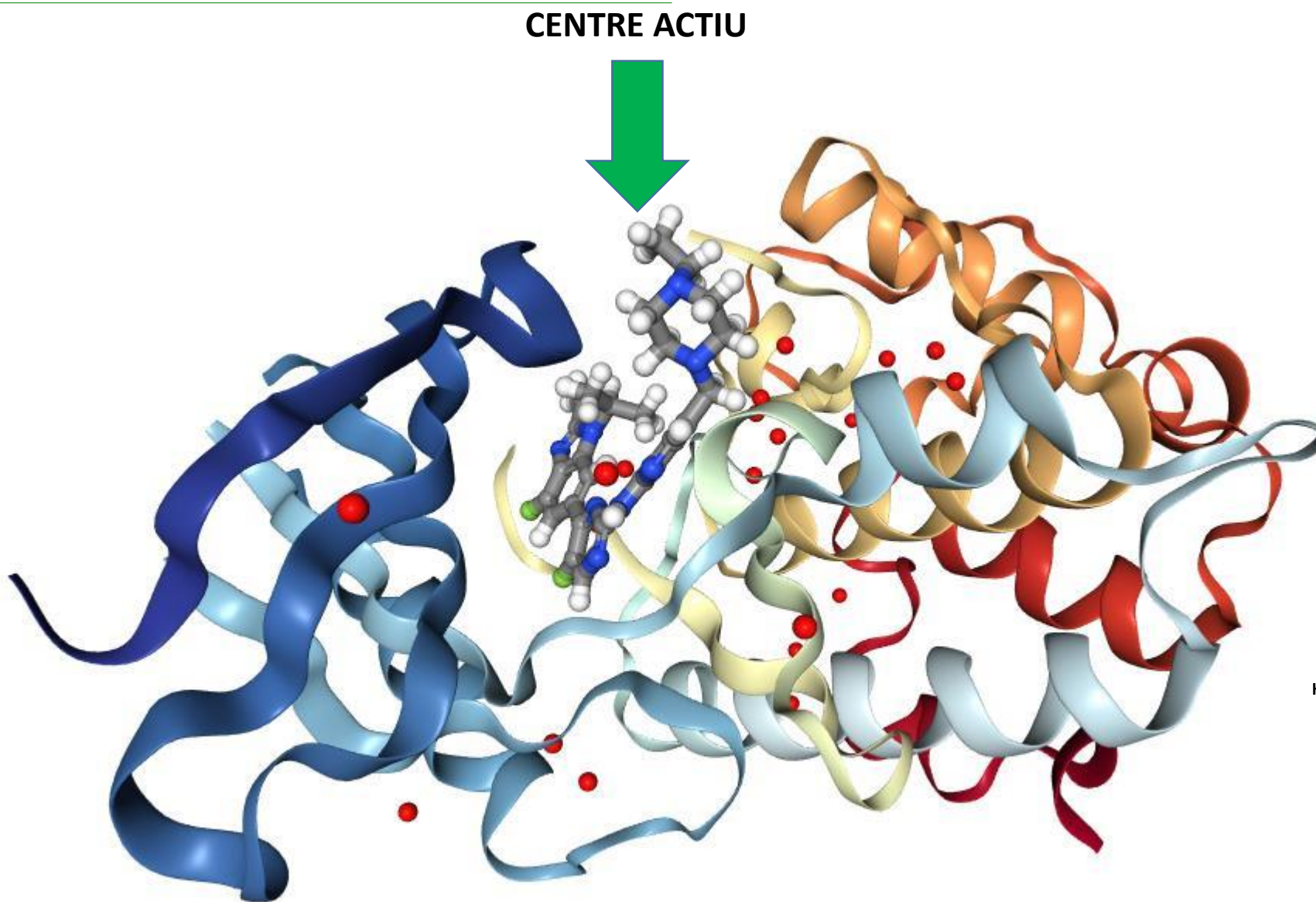


El problema és que les famílies de les proteïna-quinases humanes contenen 518 proteïnes amb el mateix cofactor d'ATP

Selectivitat?

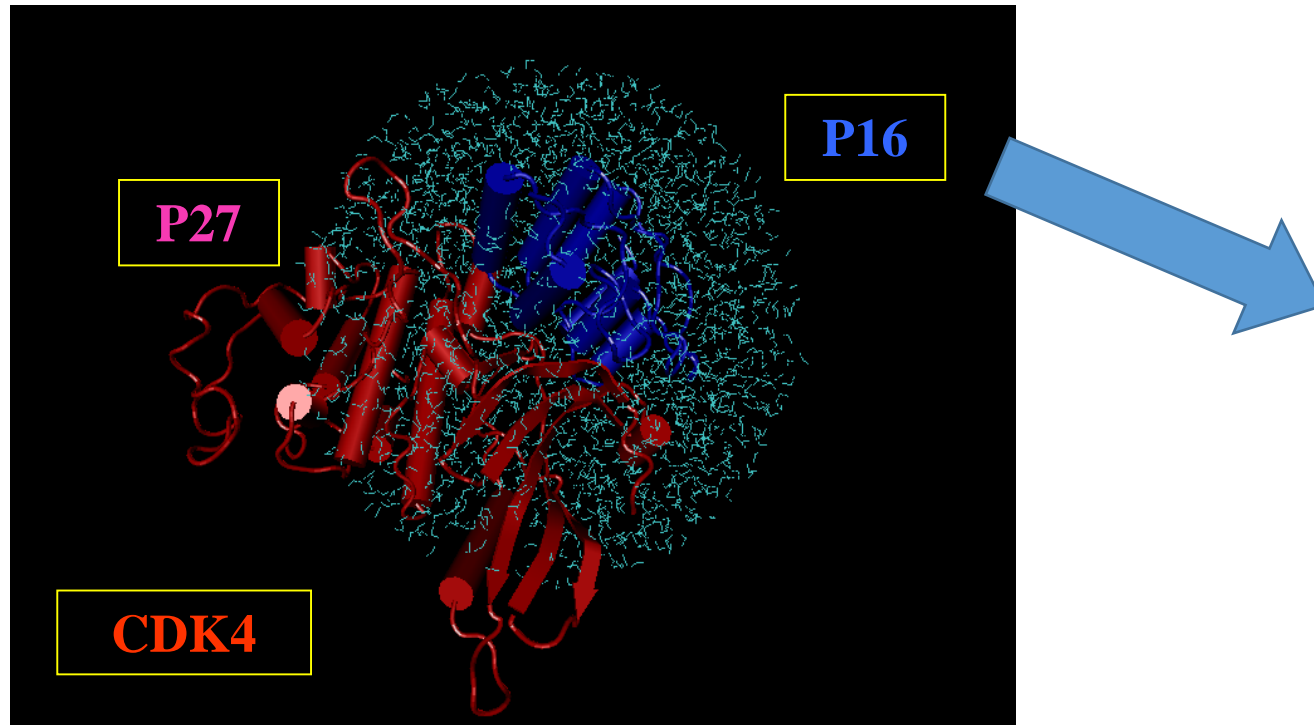


Inhibidor CDK4/6 Competitiu

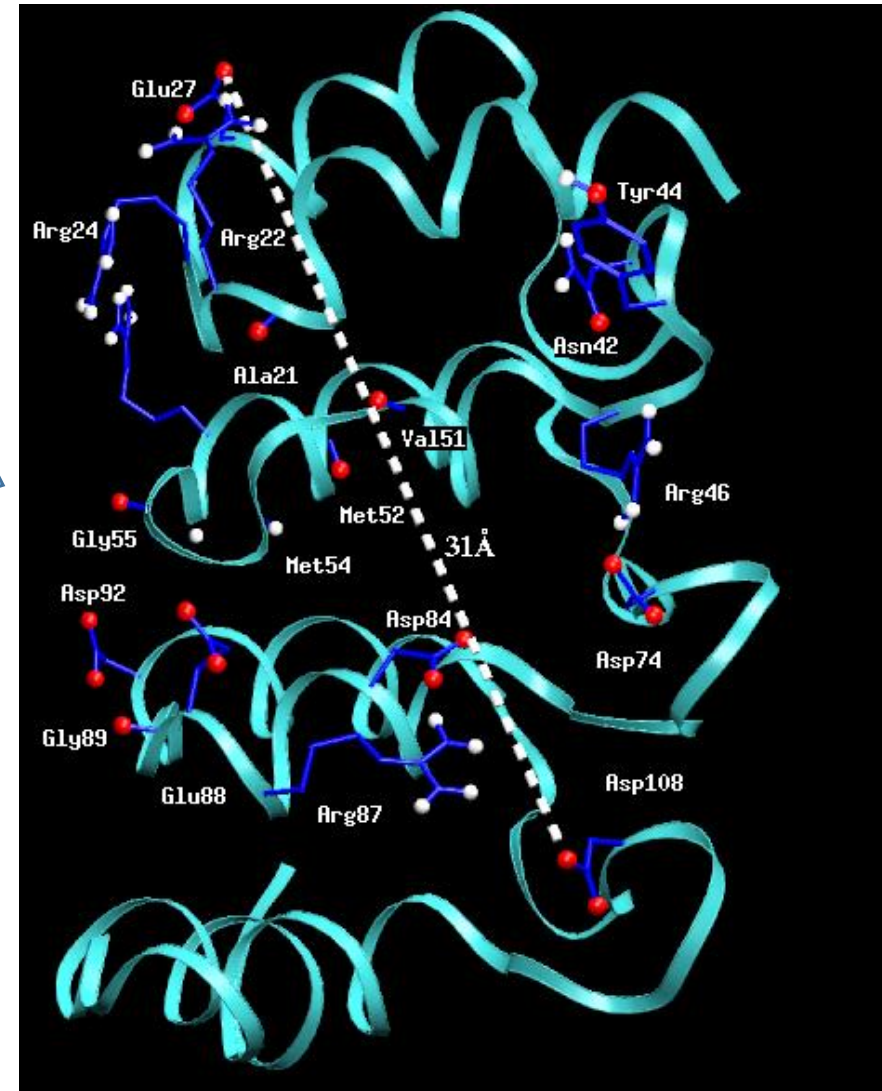


Inhibició competitiva del *Palbociclib*. Imatge 5L2S Protein Data Bank

Mode d'acció de les purines substituïdes



Proteïna CDK4 amb centres al·lostèrics



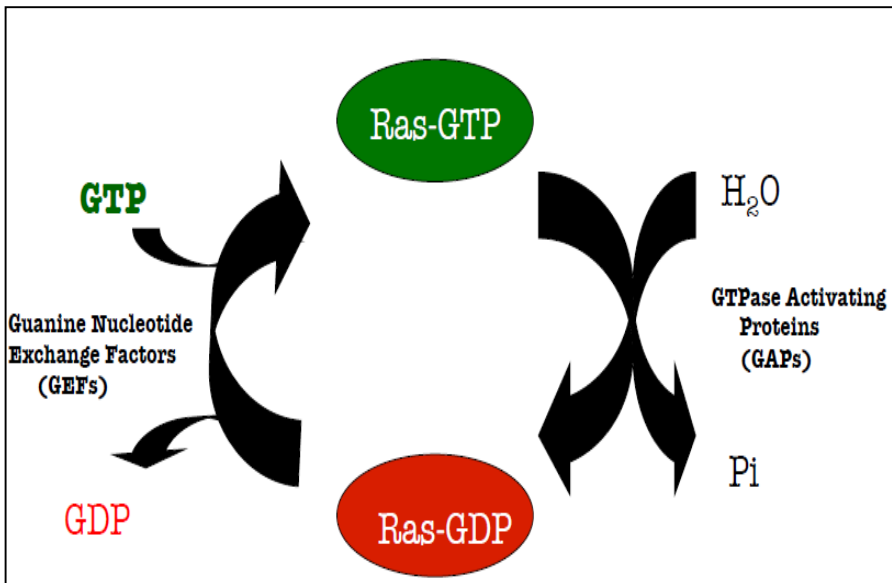
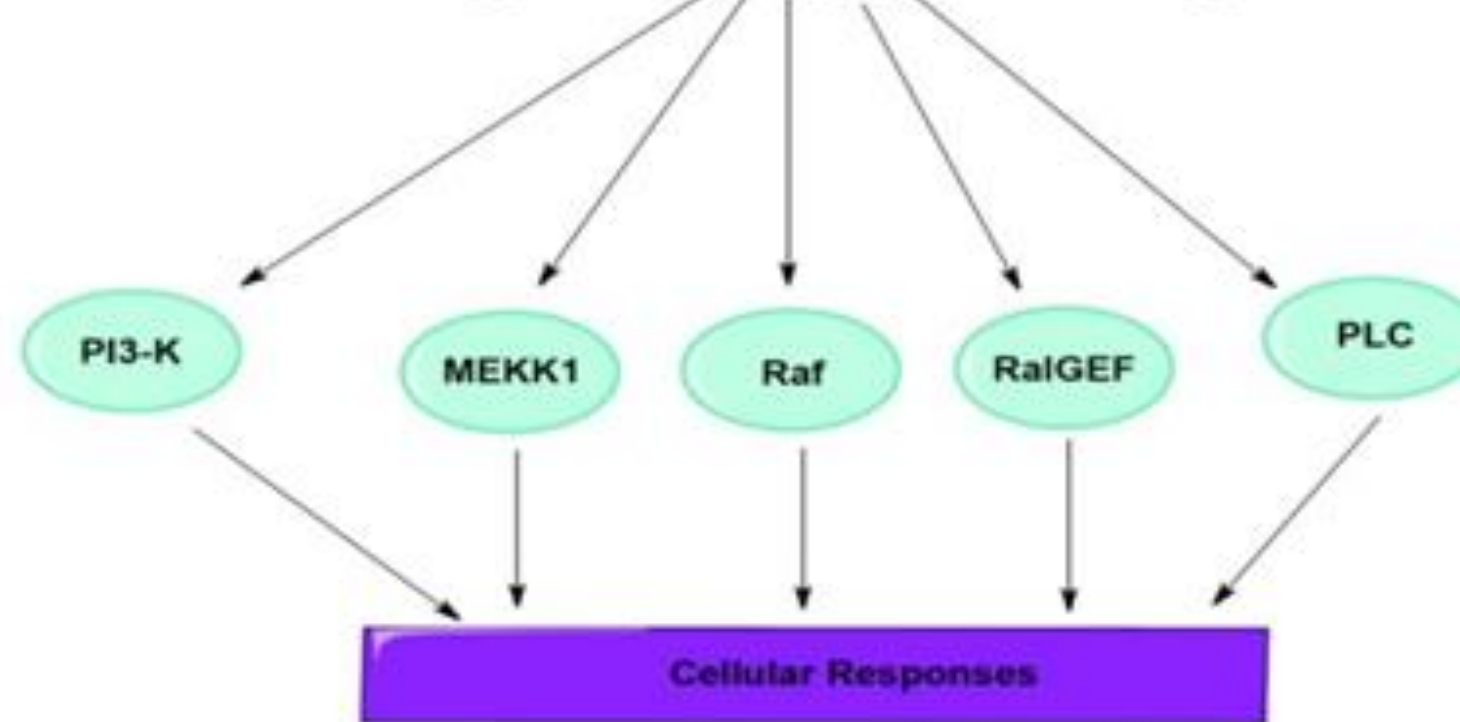
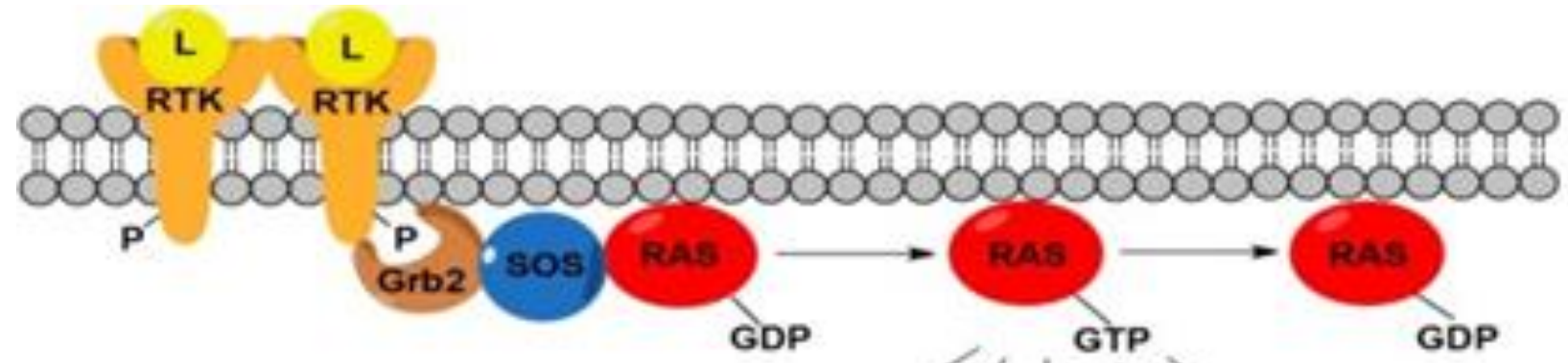
CDK4/6

KRas

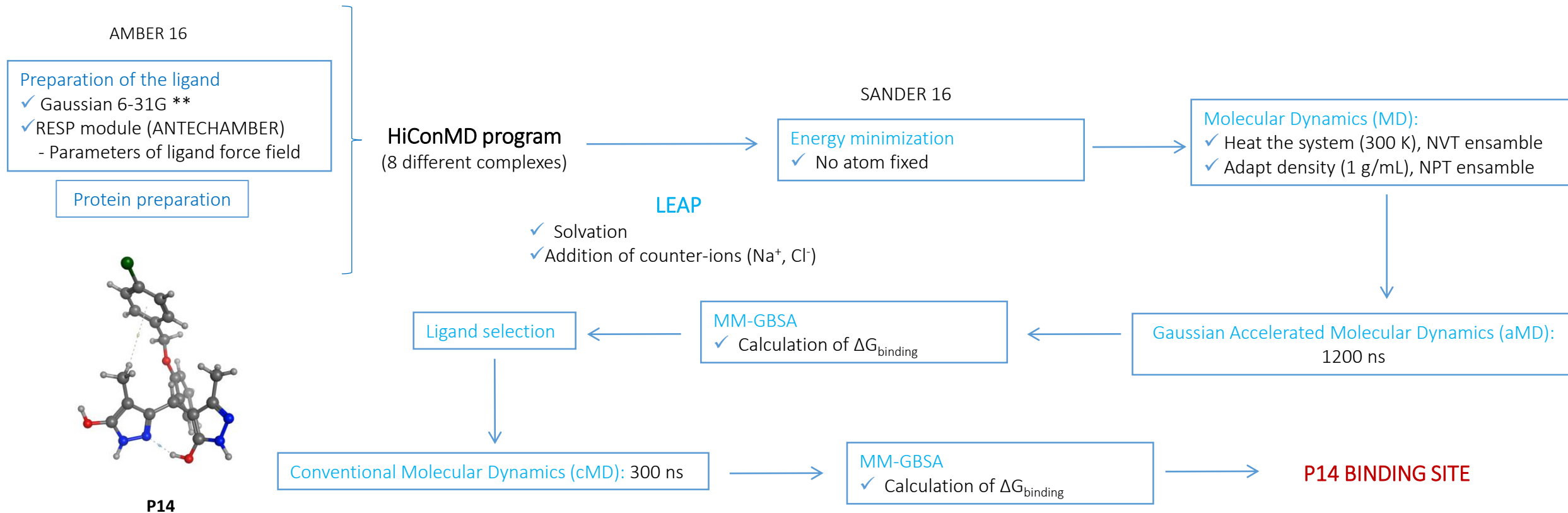
Haspina

Bcl2

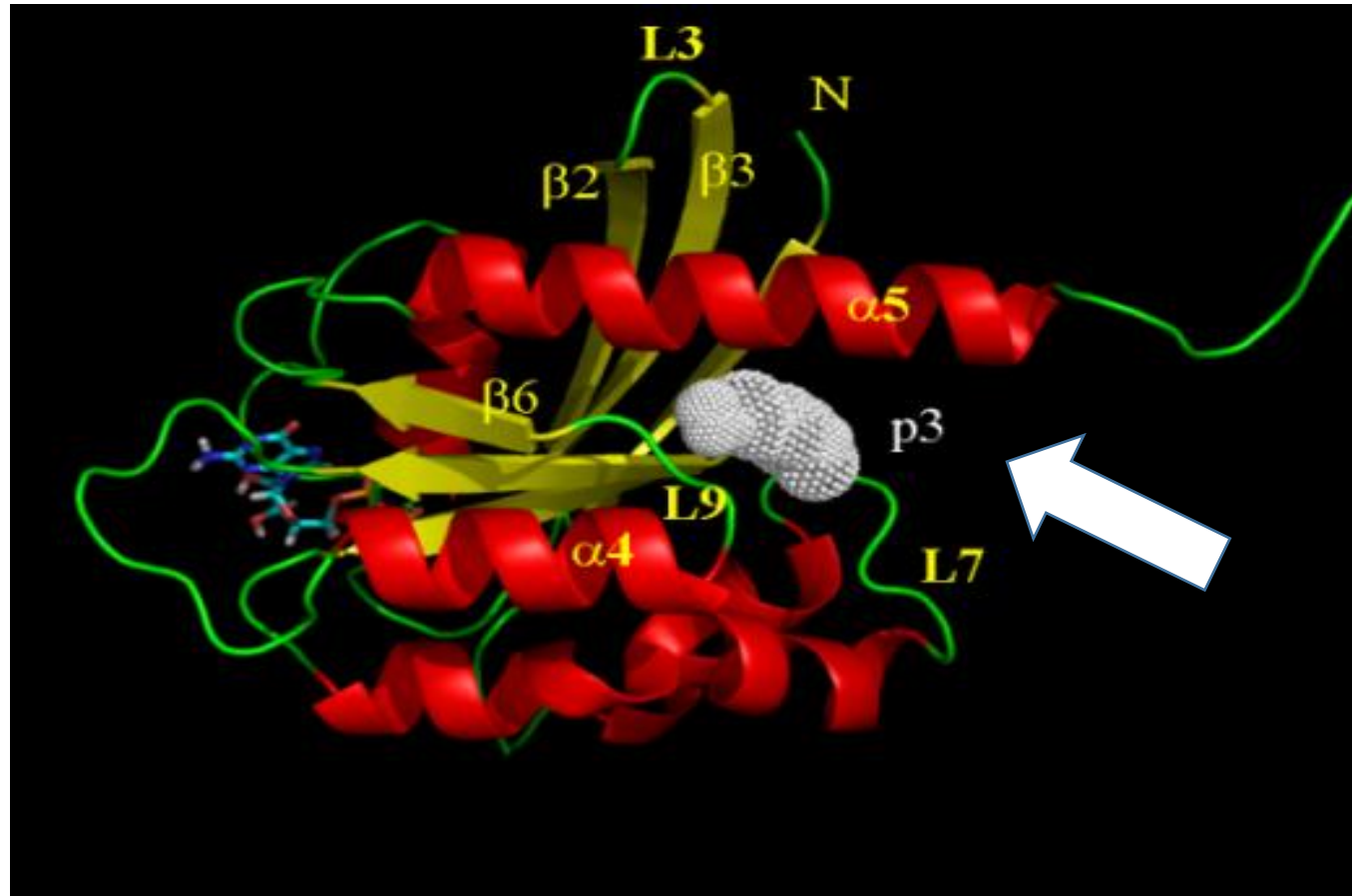
4. Inhibidors al·lostèrics de la proteïna K-Ras



METODES de MODELITZACIÓ

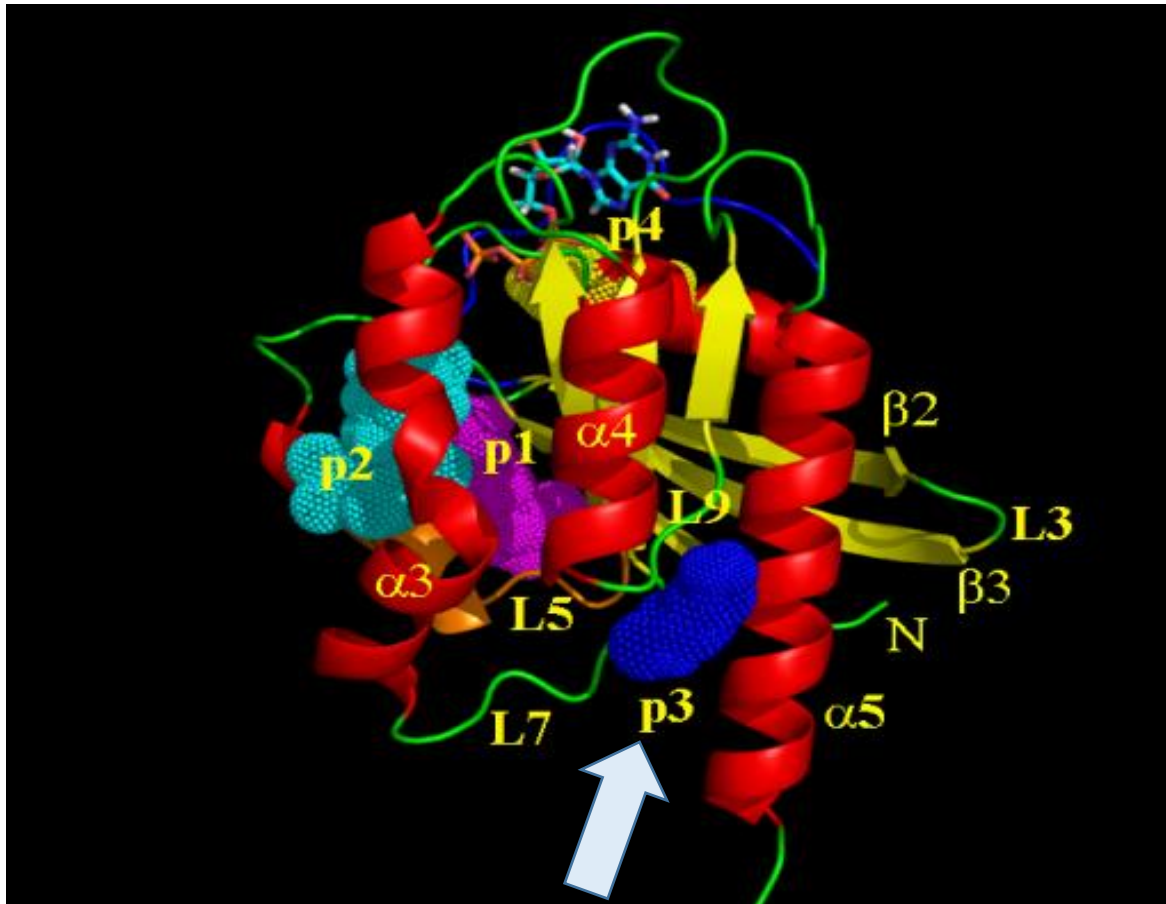


4. Inhibidors al·lostèrics K-Ras



J. Rubio *et al.* Modeling and subtleties of K-Ras and Calmodulin interaction. *PLoS Comput. Biol.* **2018**,*14*, e1006552.

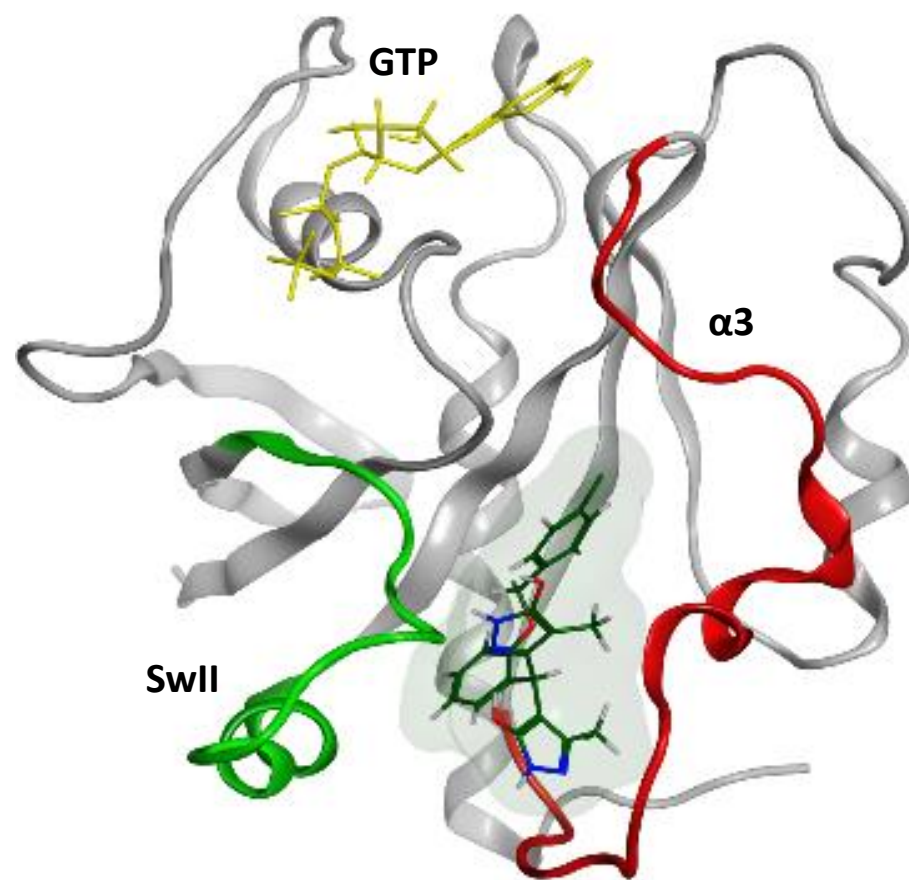
4. Inhibidors al·lostèrics de K-Ras



S'indiquen els motius estructurals més rellevants de la proteïna KRas. La ubicació dels quatre llocs al·lostèrics d'unió de lligands es mostra en malla de colors (**p1 a p4**) i el lloc al·lostèric **p3** està situat entre els motius L5, L7 i $\alpha 5$. El lloc d'enllaç previst pels compostos estudiats està situat entre l'hèlix $\alpha 3$ i $\alpha 4$. El cofactor GTP es representa a la part superior

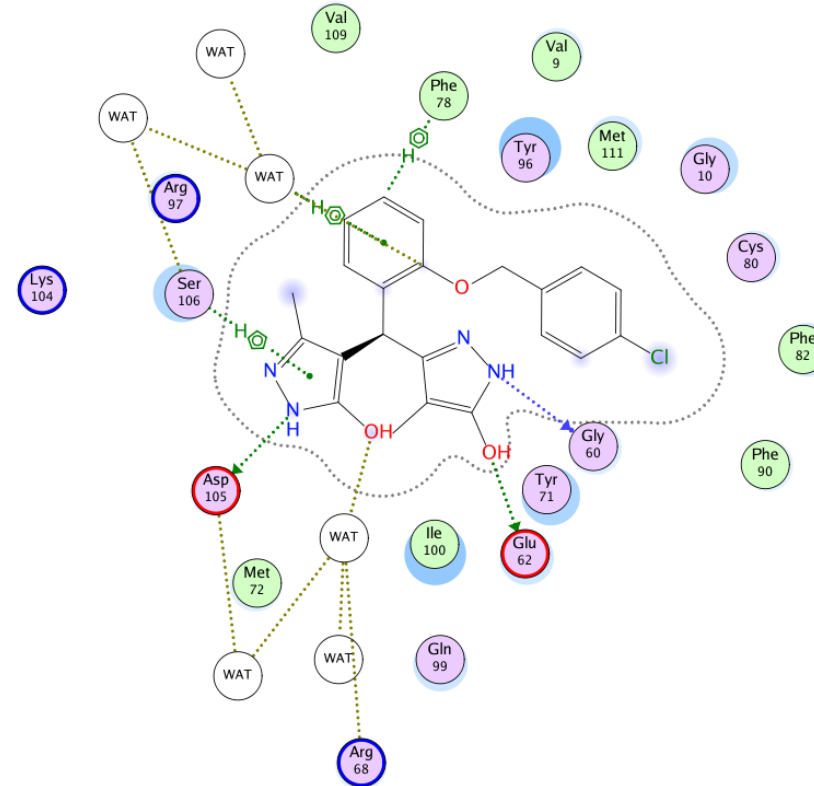
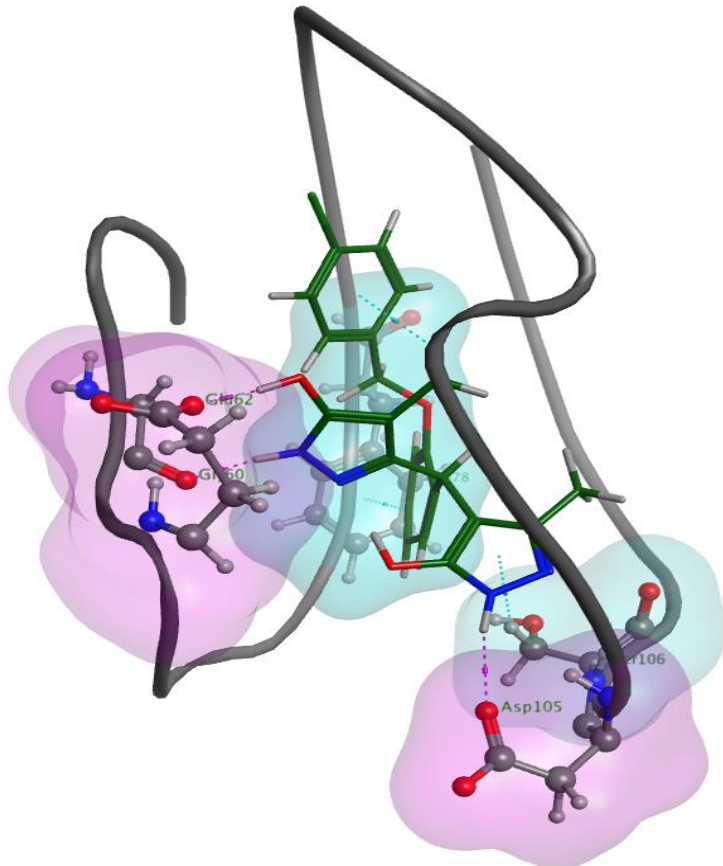
Lloc d'unió de P14

BINDING SITE OF P14

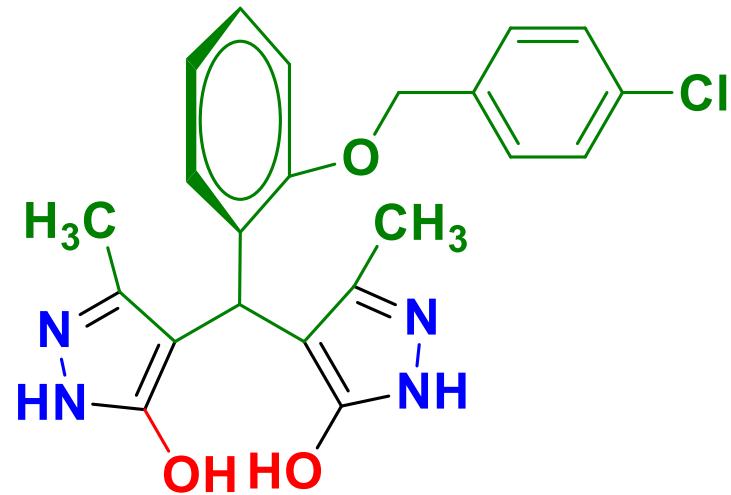


Interaccions de P14 amb KRas

P14 INTERACTIONS

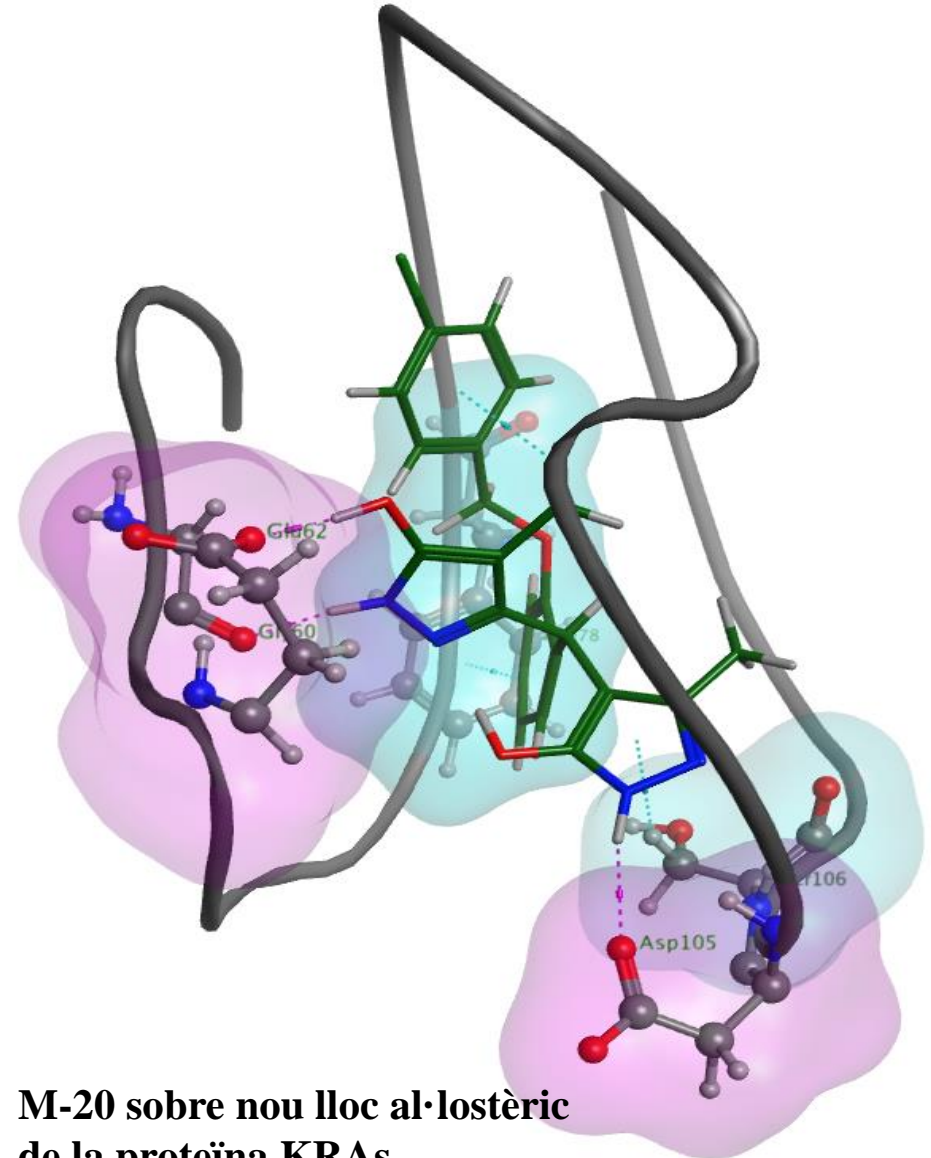


4.2. Inhibidors al·lostèrics K-Ras: *bis*-pirazòlics. Proposta



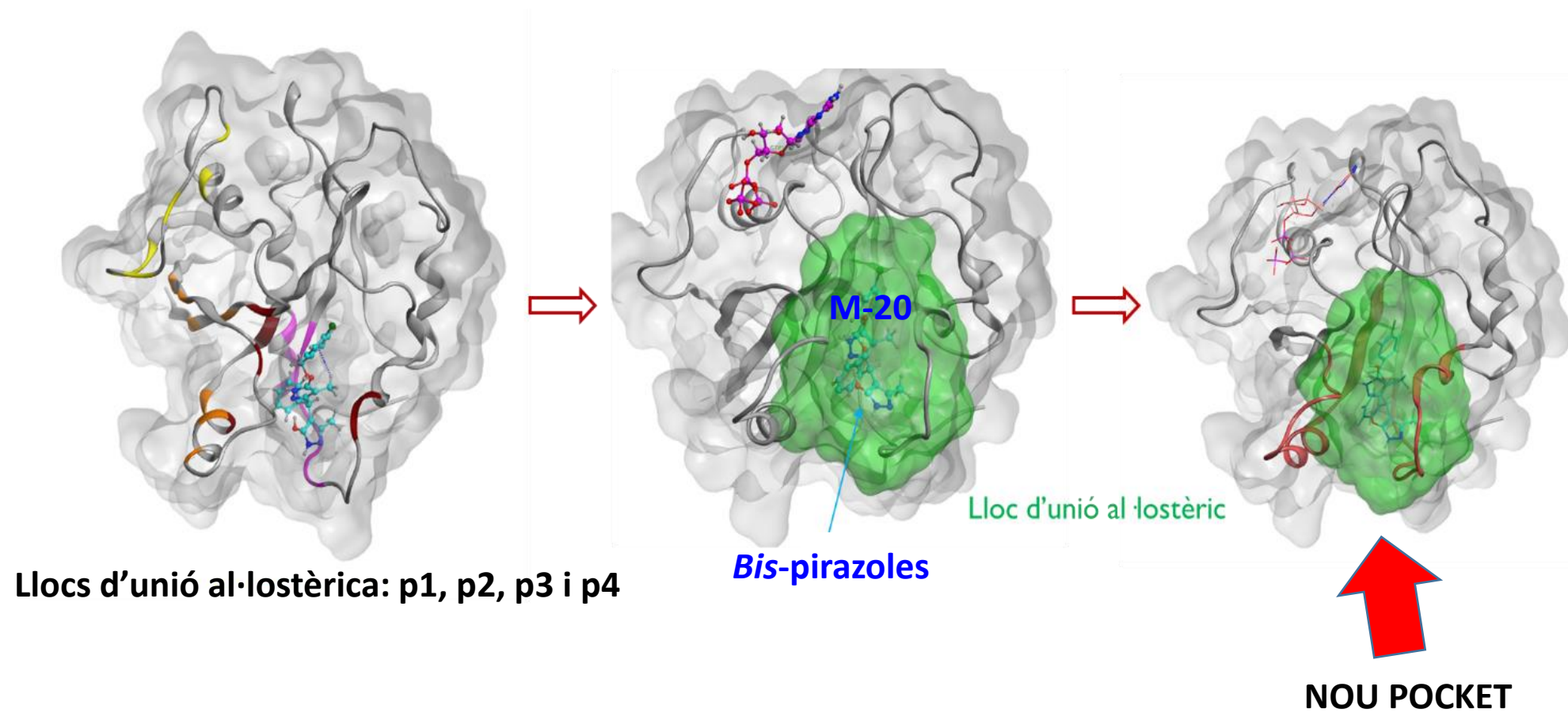
M-20

Screening teòric computacional

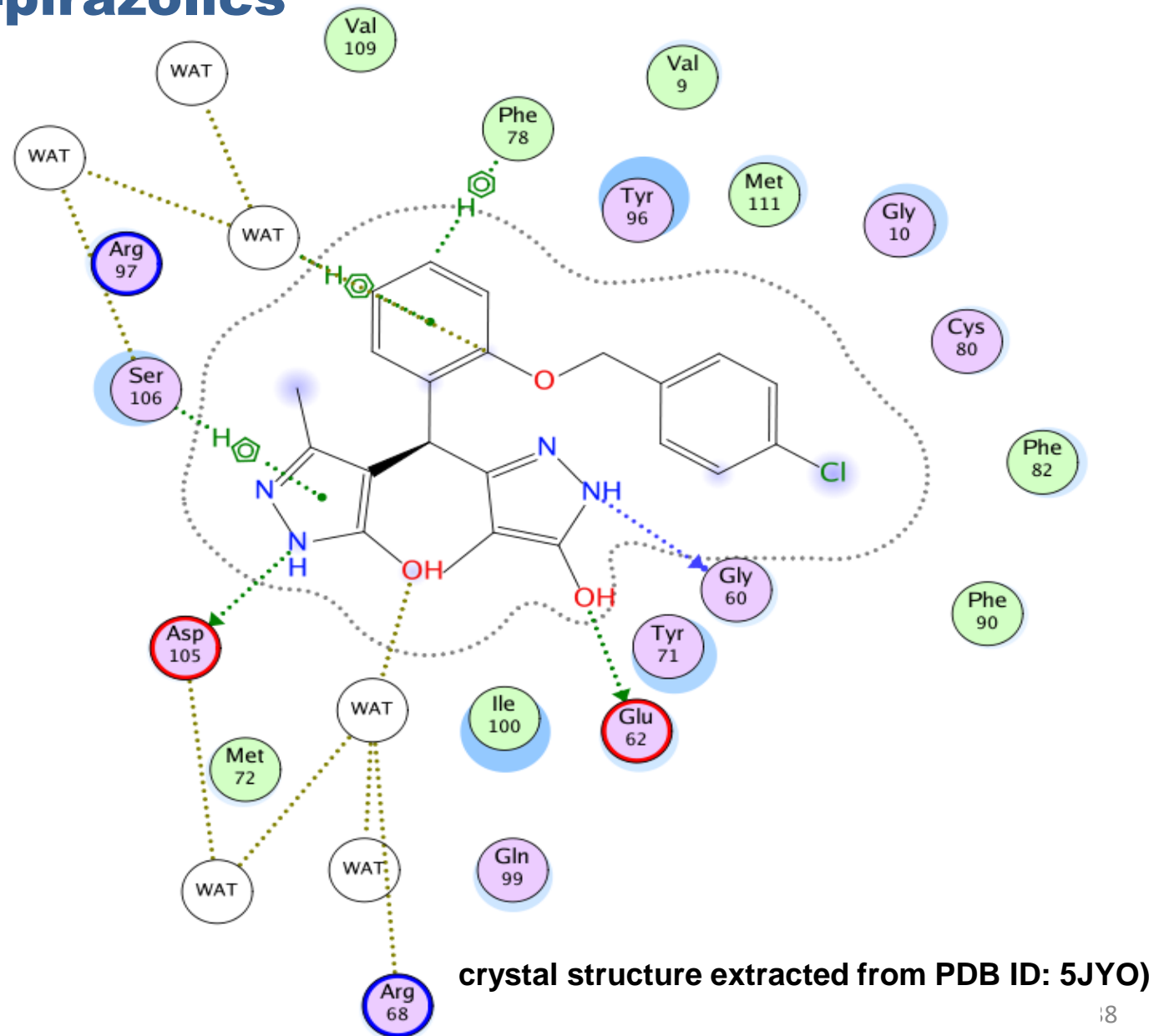
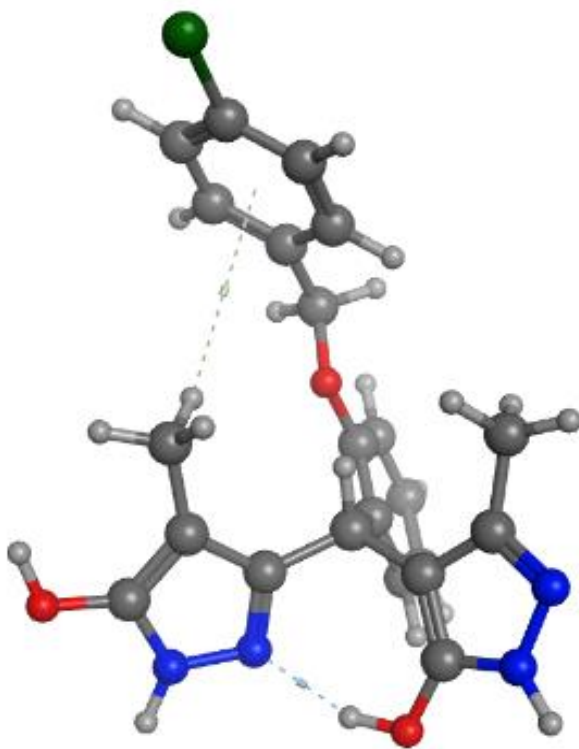


M-20 sobre nou lloc al·lostèric de la proteïna KRAS

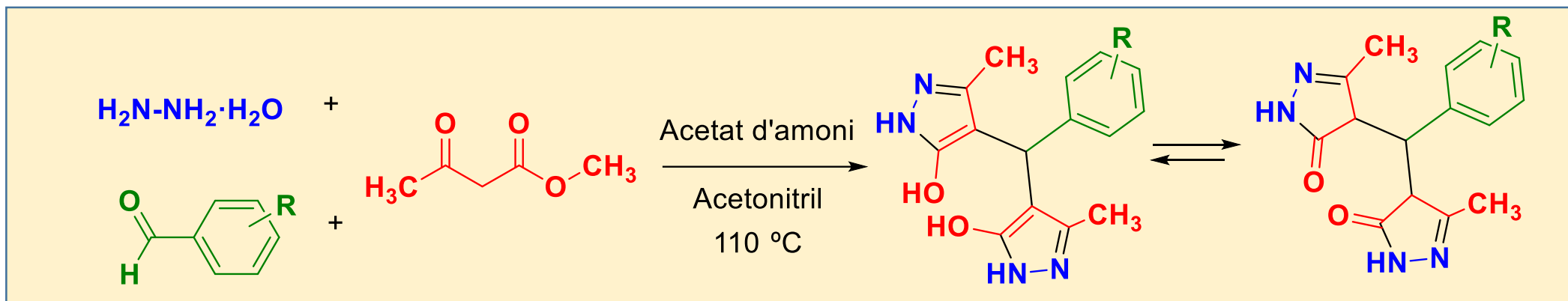
4.2. Inhibidors al·lostèrics K-Ras



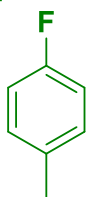
4.2. Inhibidors K-Ras: *bis*-pirazòlics



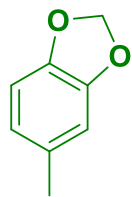
4.3. Inhibidors al·lostèrics de Kras: Síntesi *bis*-pirazoles



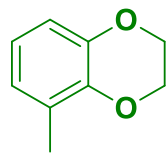
R:



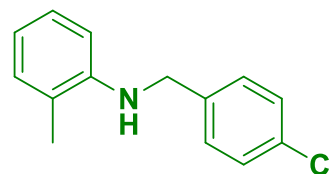
M-1



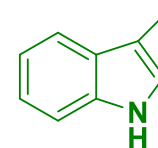
M-2



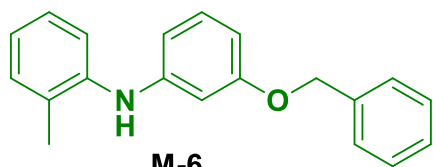
M-3



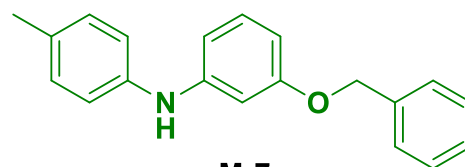
M-4



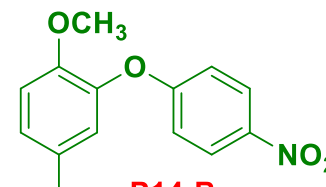
M-5



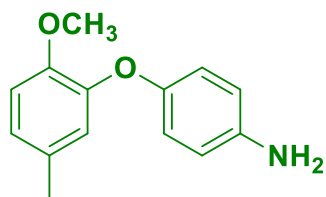
M-6



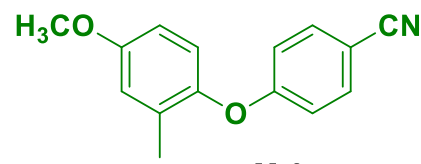
M-7



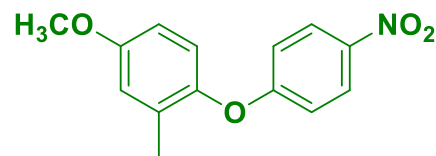
P14-B



M-8



M-9



M-10

✓ *Inter. J. Molecular Sci.* **2023**,
1661-6596

✓ PCT. Compounds affecting
KRAS.
EP-22383292.4.27/12/2022.
UBAR - Universitat de Barcelona

✓ Proyecto MICINN PDC2022-
13365-100

CDK4/6

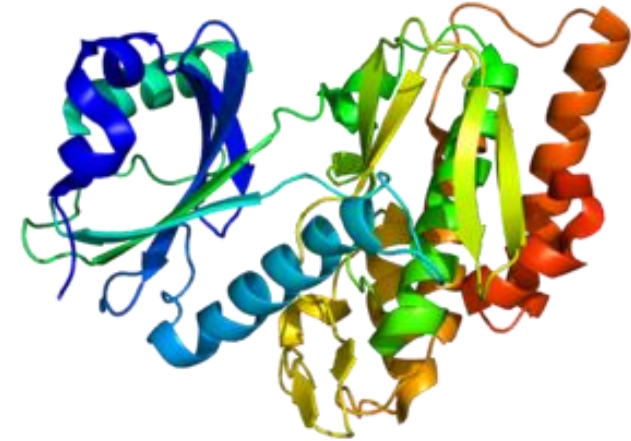
KRas

Haspina

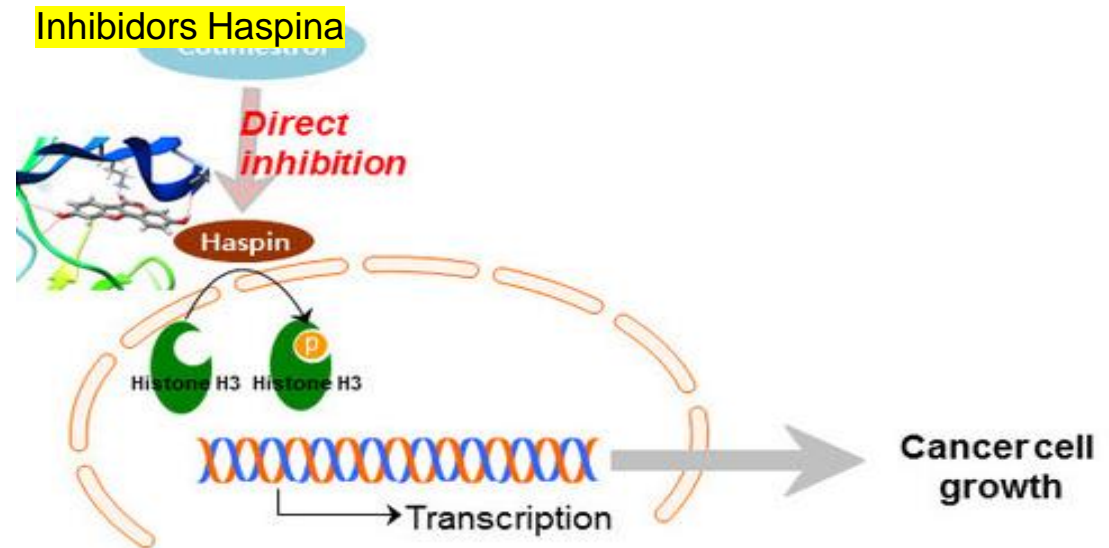
Bcl2

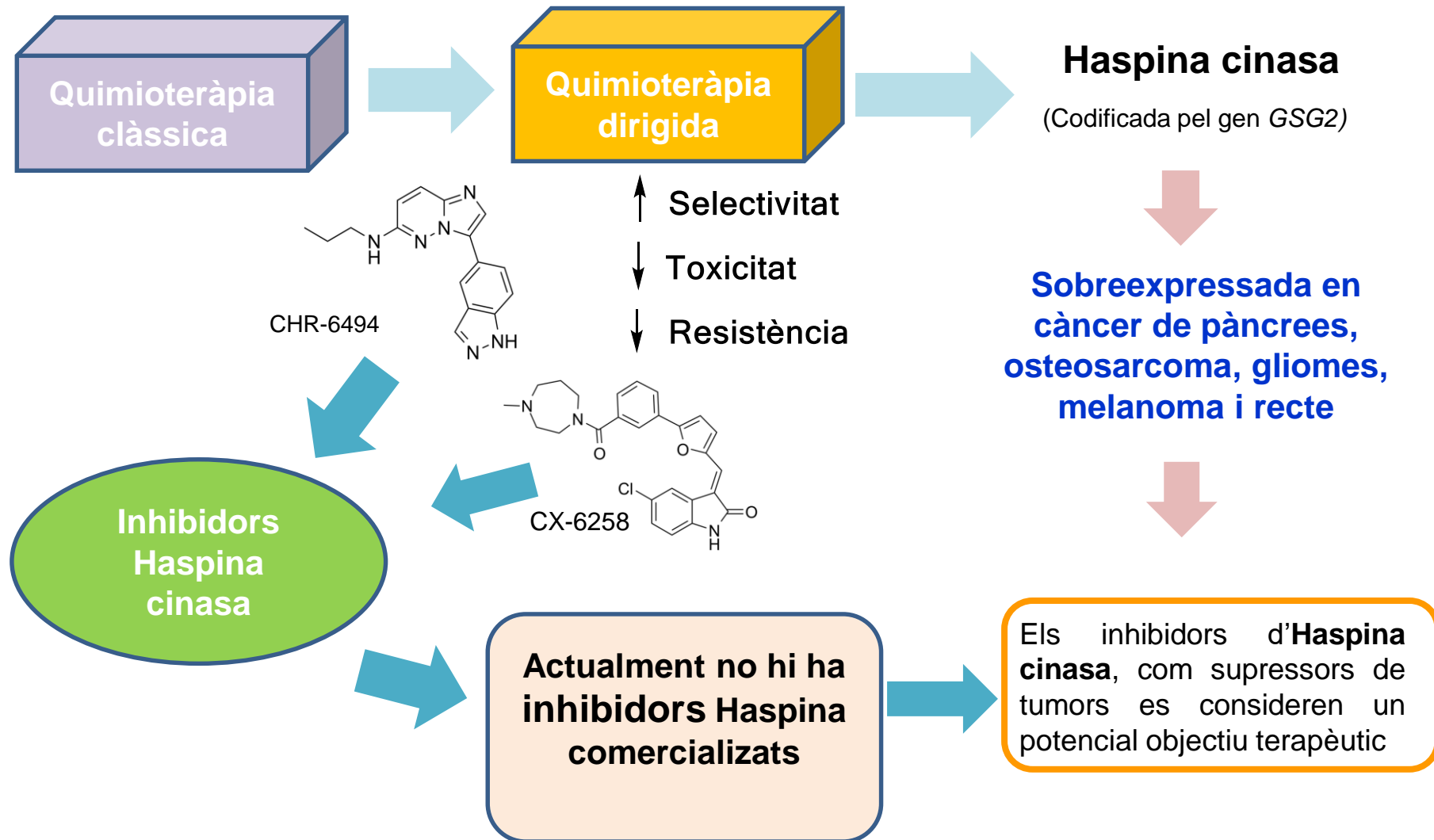
Haspina cinasa

- Serina/treonina proteïna cinasa atípica **essencial per a la mitosi**.
- El domini quinasa **no requereix fosforilació per activar-se** i té una **especificitat i selectivitat** de substrat molt **altes**.
- La fosforilació de treonina 3 de la histona H3 donada per Haspina des de la profase fins l'anafase participa en la localització centromèrica d'Aurora B, assegura la unió del cinetocor-microtúbul i permet el manteniment de la **cohesió centromèrica i el fus mitòtic**.

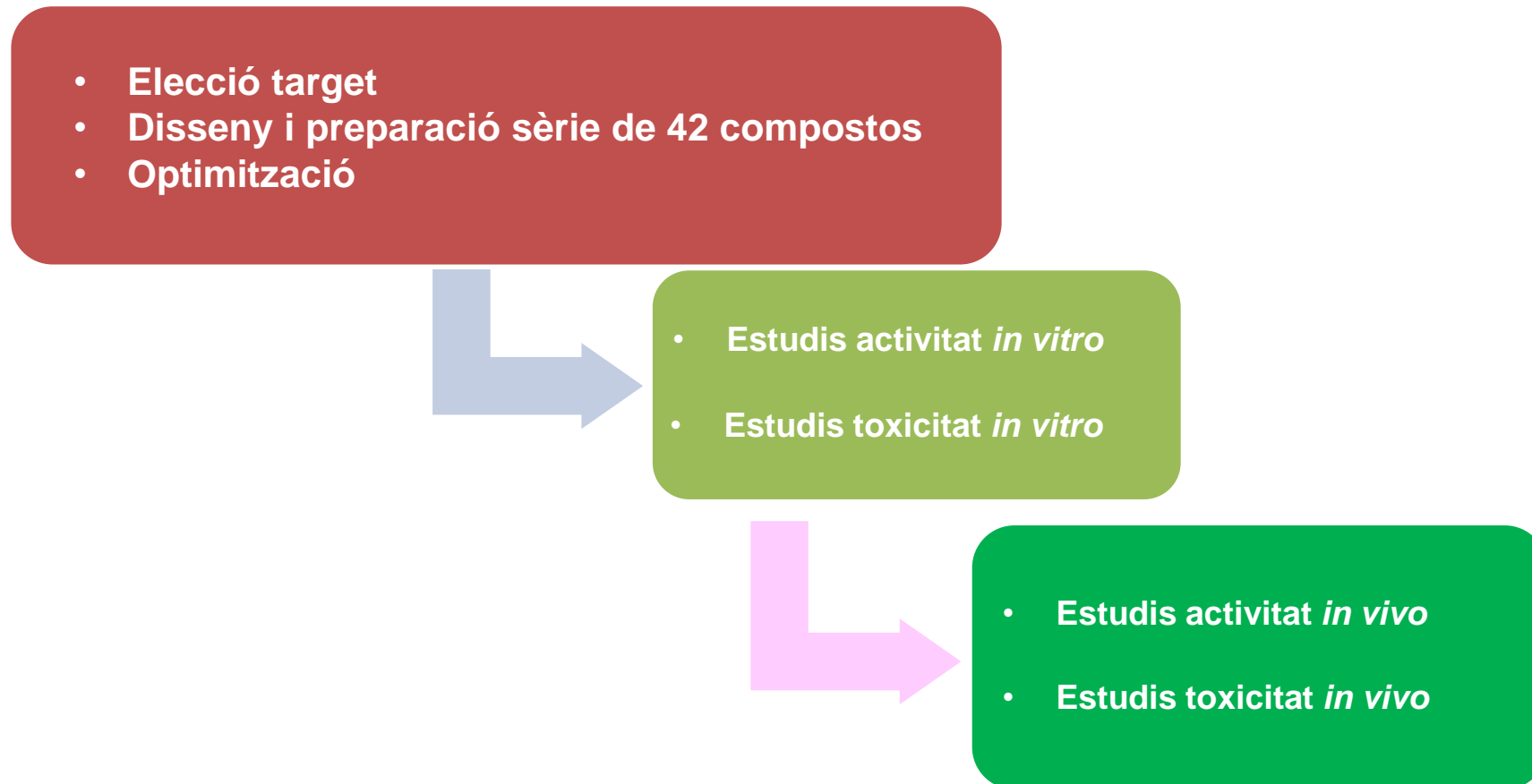


Haspina cinasa
(<http://doi.org/10.2210/pdb2WB8/pdb>)

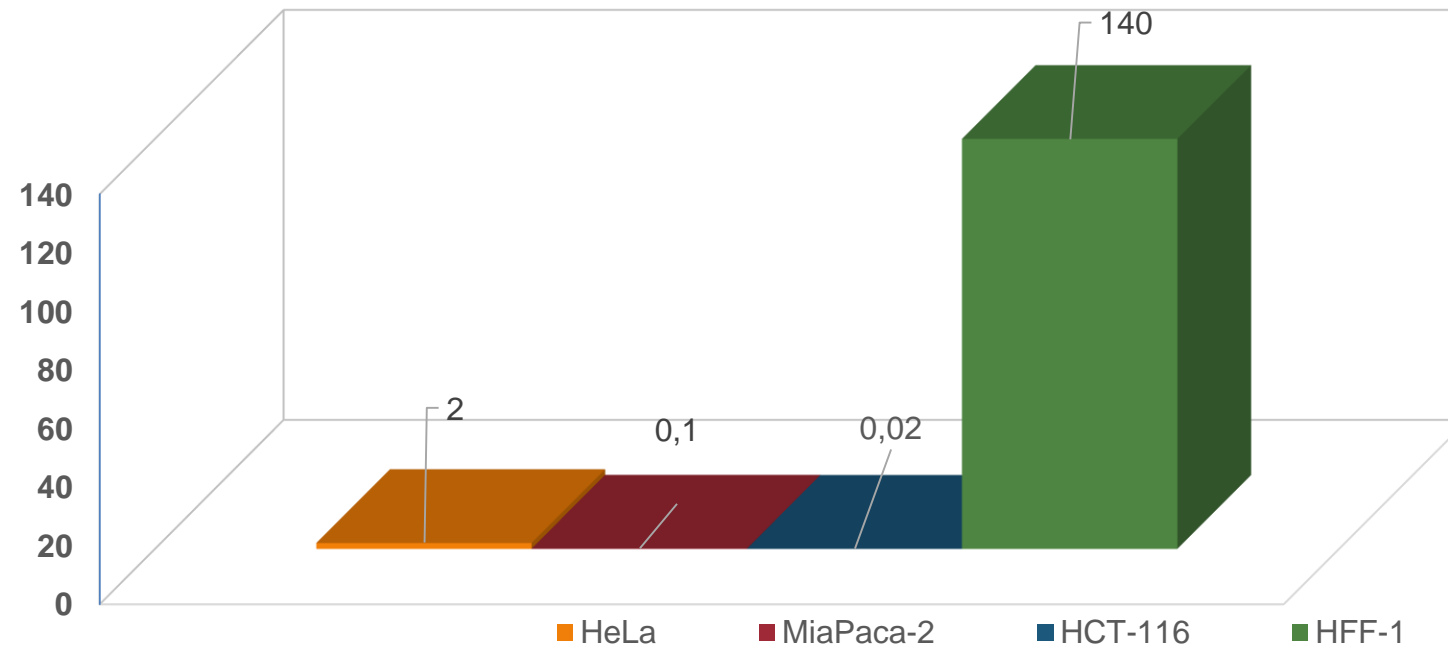




Nous compostos inhibidors d'Haspina cinasa



Actividad *in vitro* en otras líneas celulares del PM1 (Lead)



CDK4/6

KRas

Haspina

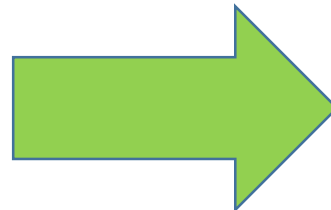
Bcl2

Bcl2

Es la proteïna encarregada de regular el mecanisme intrínsec o mitocondrial de l'apoptosi, presenta uns dominis estructurals característics **BH1-BH4**

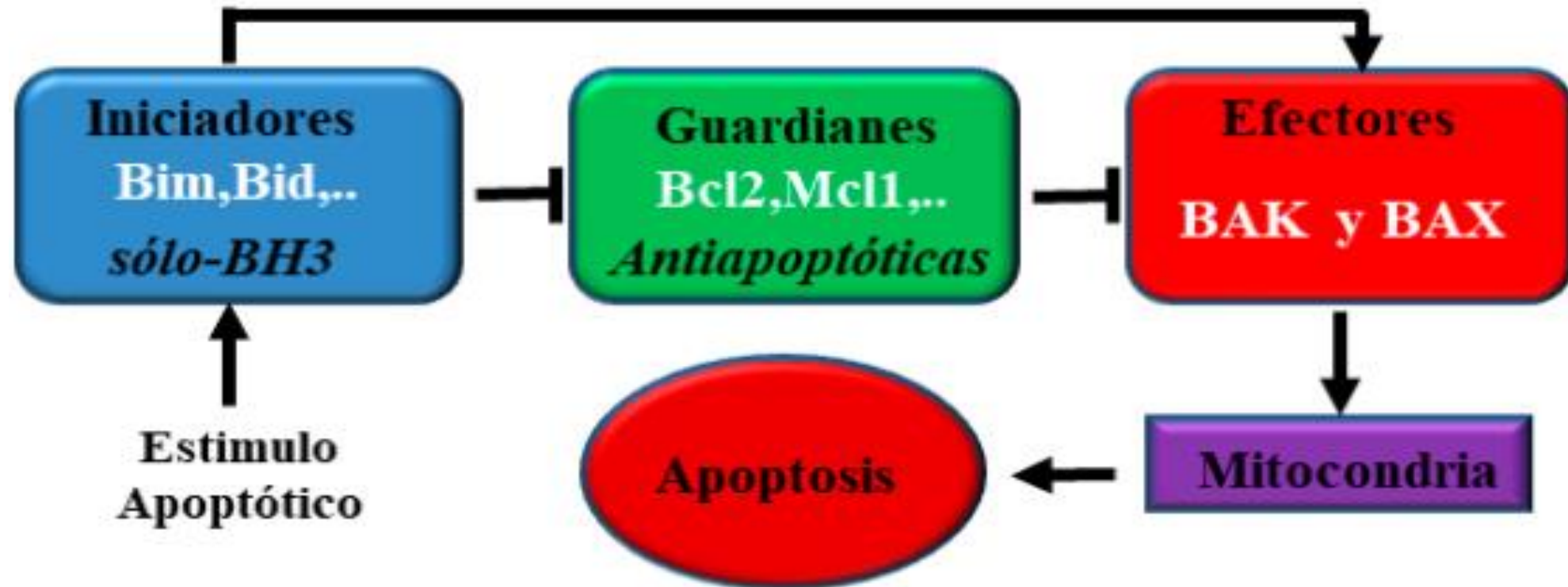
- ✓ **Subfamília Bcl2 (anti-apoptòtica):** Bcl2, Bcl-XL, Bcl-W, MCL-1, Bcl 2A1, Bcl-B
- ✓ **Subfamília Bax (pro-apoptòtica):** Bax, Bak, BoK
- ✓ **Subfamília BH3 (pro-apoptòtica):** Bad, Bid, Bik, Blk, Biml, PUMA, NOXA, BMF, HRK

Bcl2 sobre-expressada



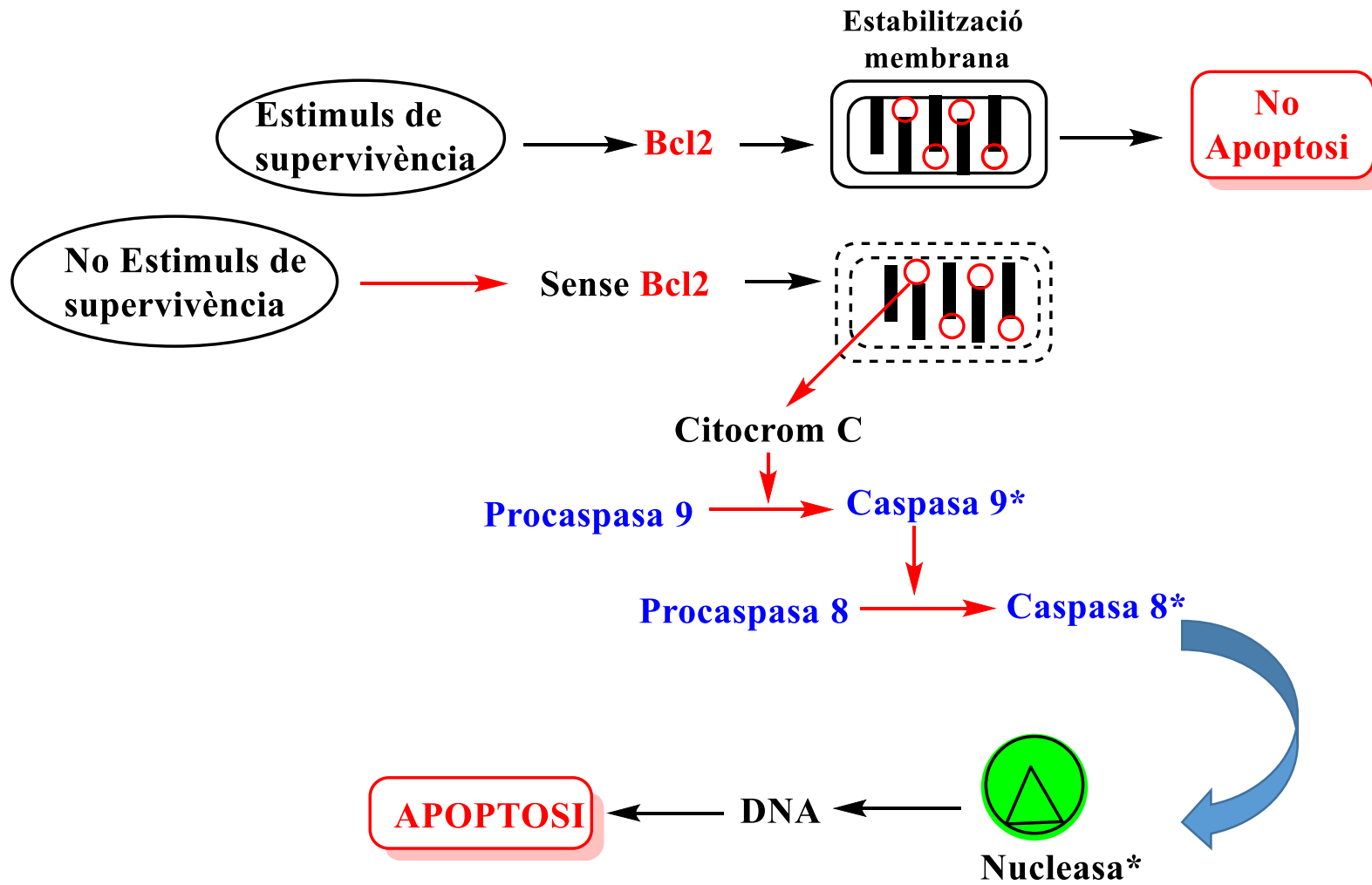
- **Limfomes**
- **Melanoma**
- **Carcinomes**
- **Pròstata**
- **Pulmó**

Bcl2 i subfamílies

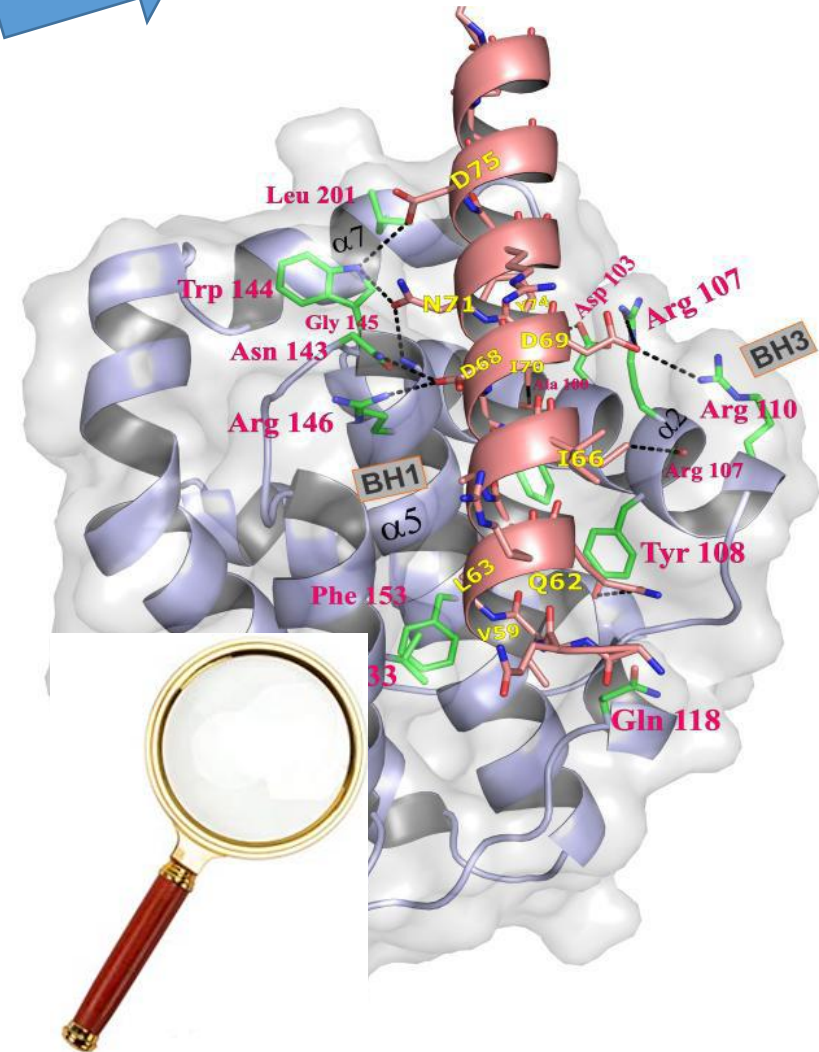


Família Bcl2 en el procés d'apoptosi

3. Proteïna Bcl-2/Bak: mediadora de l'apoptosi

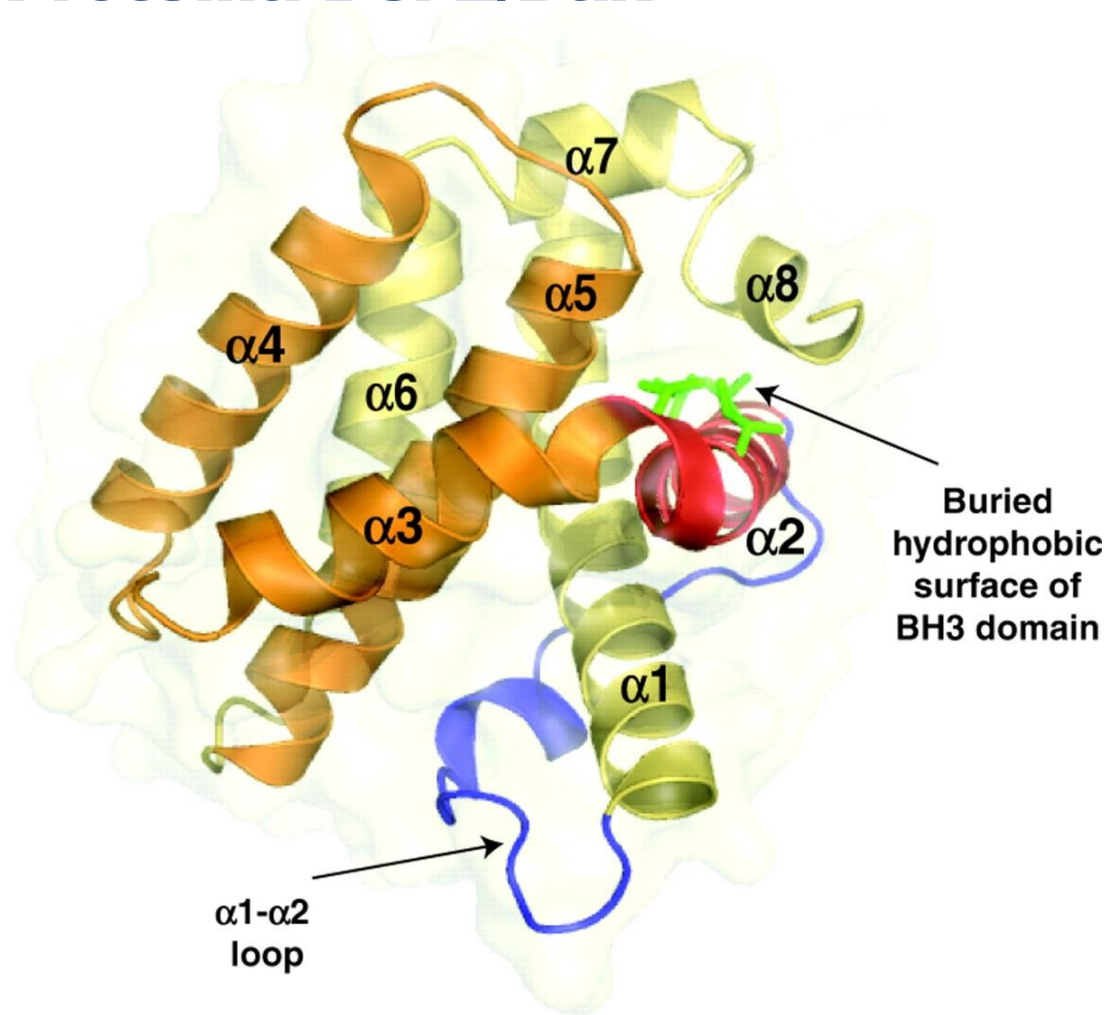


Creixement cel·lular



Bcl-2/BAK està implicada en limfomes i melanomes

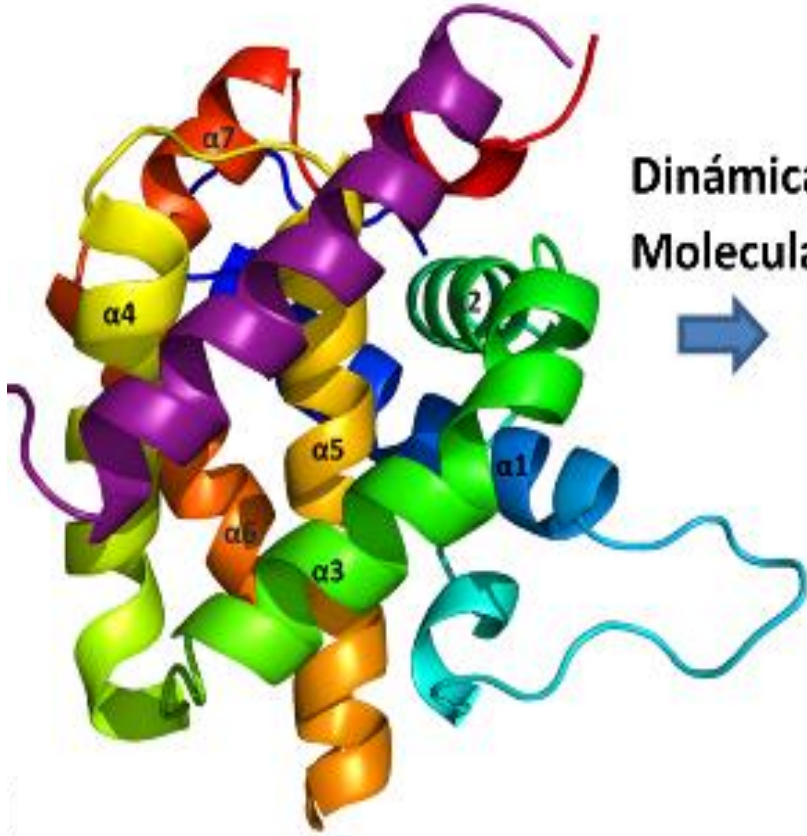
3. Proteïna Bcl-2/Bak



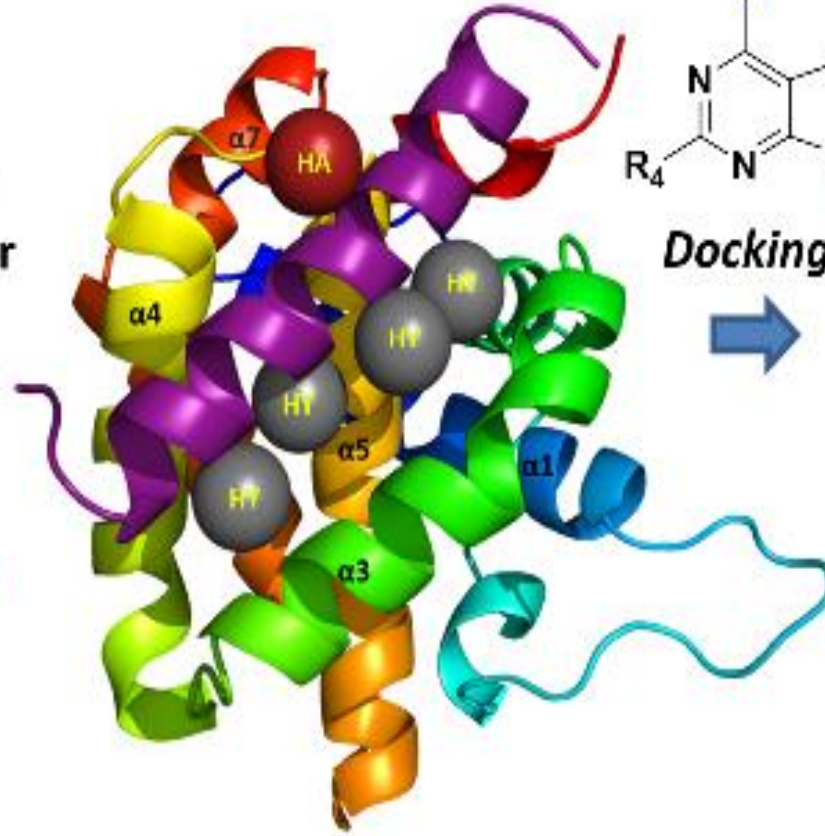
Estructura helicoidal de Bak no activada. Diagrama de cintes de Bak human (residus 21-183) tal com es mostra a l'estructura de rajos X (fitxer RCSB Protein Data Bank 2IMT) (Moldoveanu et al., **2006**). Les hèlices α 1-8 són visibles. El solc hidrofòbic inclou α -hèlices 3-5 (**taronja**) i part de α -hèlix 2 (**vermell**). Els aminoàcids hidrofòbics conservats (**verds**) al domini BH3 es troben cap al nucli de la proteïna. Durant l'apoptosi, aquesta regió s'exposa de manera transitòria abans d'enllaçar-se a la ranura hidrofòbica d'una altra molècula de Bak (Dewson et al., **2008**). L'exposició a BH3 es pot acomodar pel llaç interhelical $\alpha 1$ - $\alpha 2$ (**blau**).

Aquesta imatge es va generar mitjançant PyMol (DeLano, **2002**)

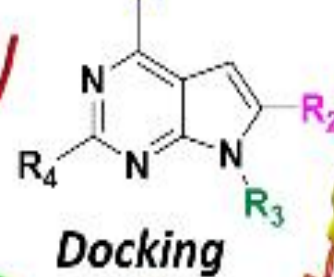
a) Bak(BH3)



b) Farmacóforo



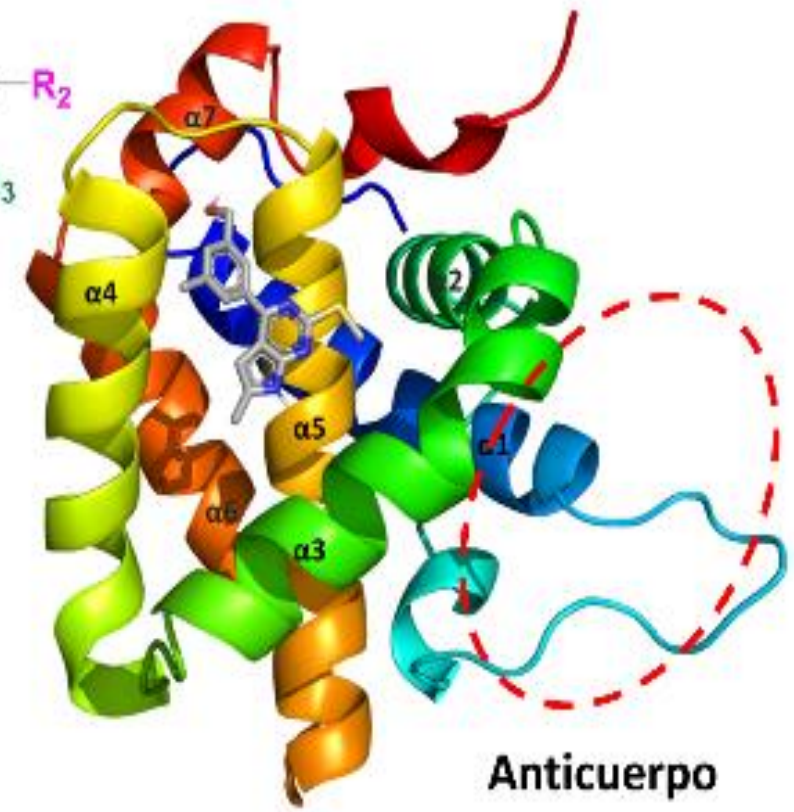
c) R1 R2 R3 R4



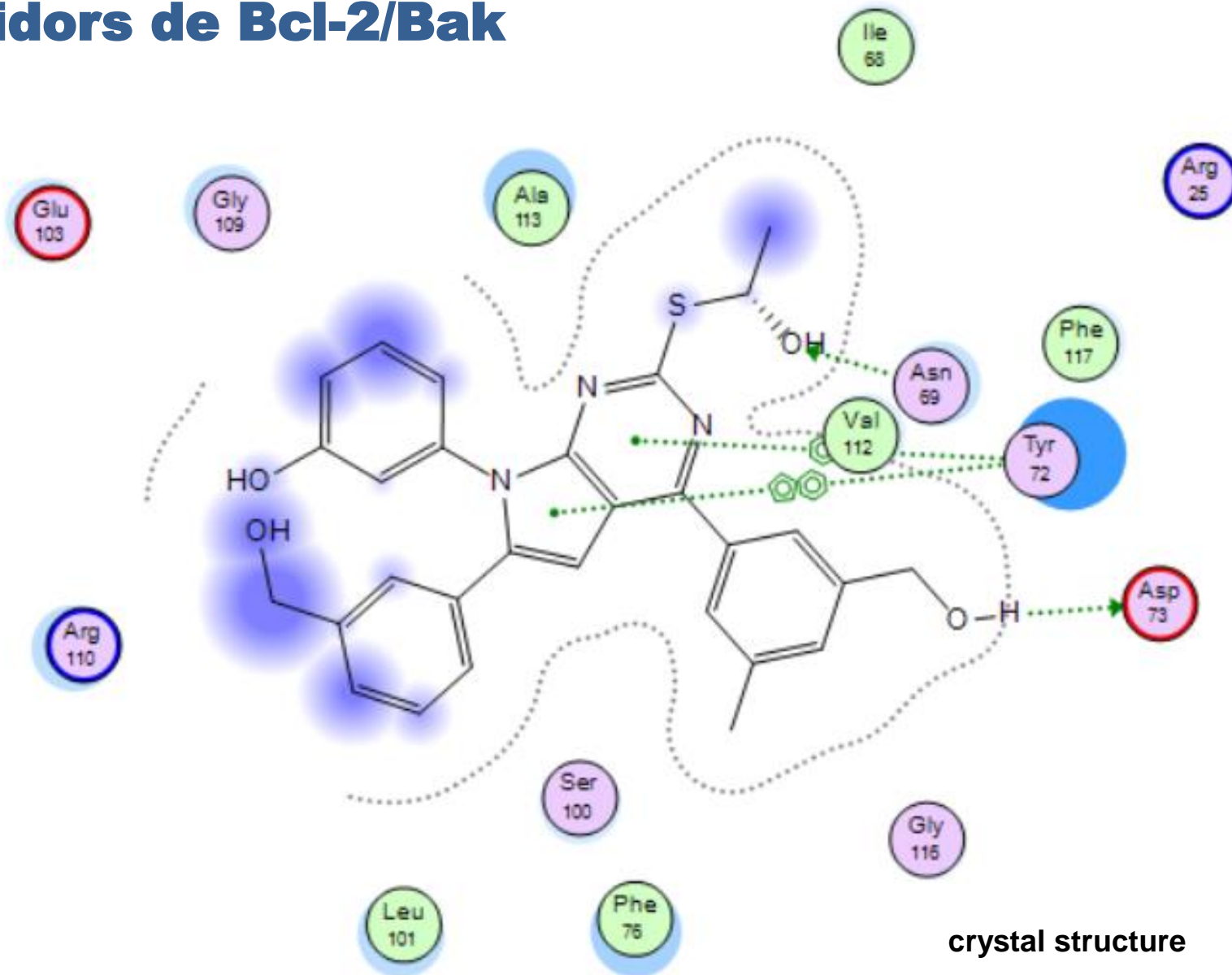
Docking



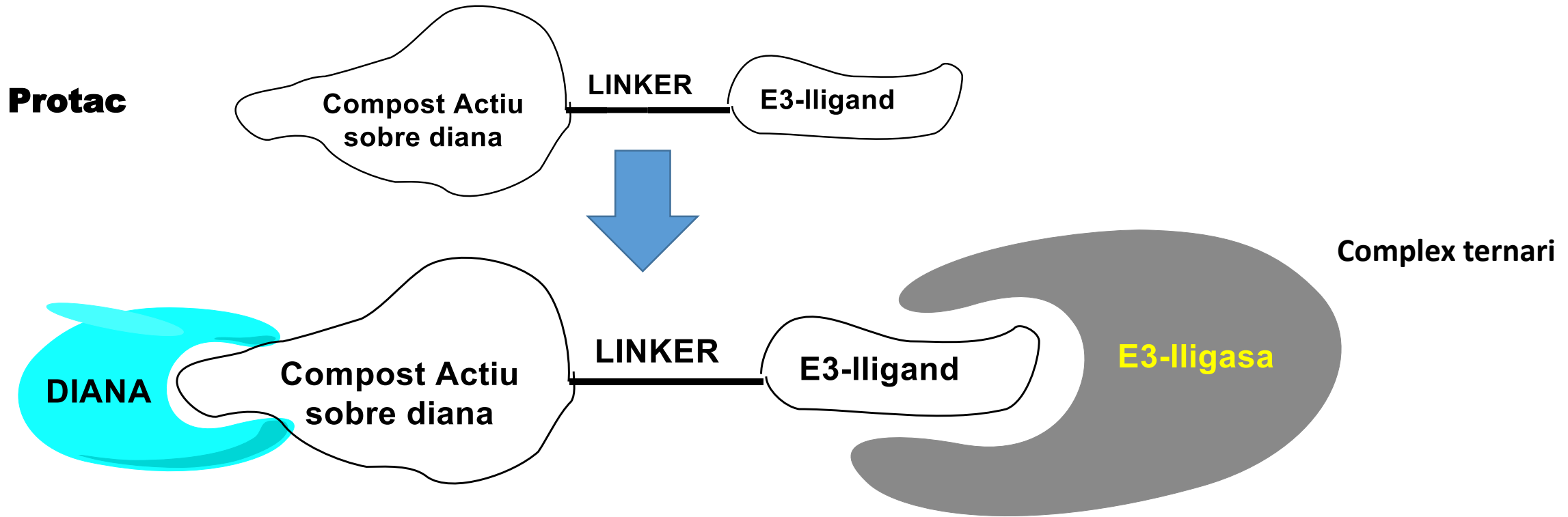
d) Dinámica Molecular



3.1. Inhibidors de Bcl-2/Bak



6. PROTACS (Proteolysis Targeting Chimera)



Seleccionar la diana

Ha de formar complex ternari

Ubiquïtinització

Selectivitat del PROTAC per l'E3-Iligasa

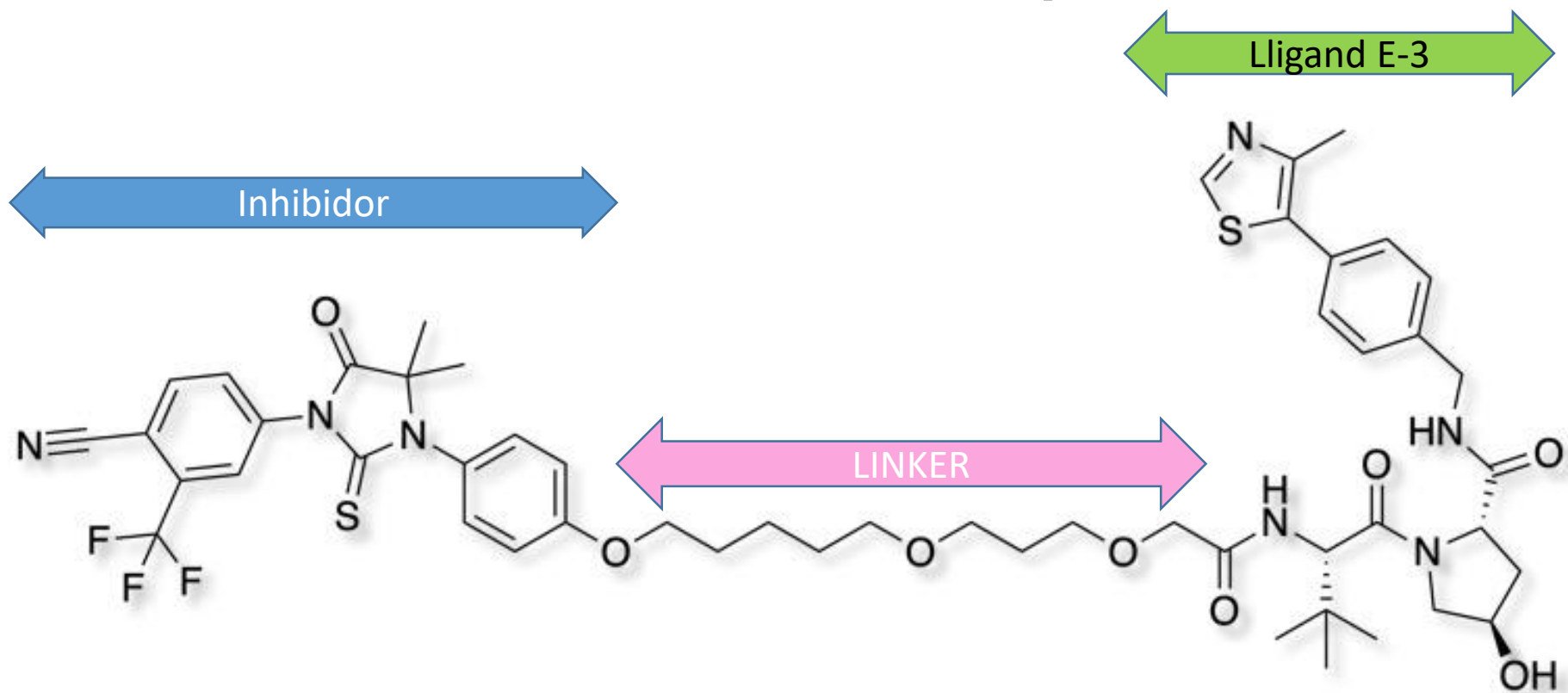
Degradació per proteòlisi Superior al 50%

6. PROTACS (Proteolysis Targeting Chimera)

PROTAC ha obert una nova i apassionant àrea de descobriment de potencials fàrmacs, les avantatges més remarcables són:

- **Degradació de les proteïnes patogèniques en lloc d'inhibir-les**
- **Baixa dosificació**
- **Reduir la toxicitat**
- **Efecte farmacodinàmic perllongat**
- **Acció sobre proteïnes en les que no és possible actuar amb fàrmacs**

6.1. Primer PROTAC en fase clínica I (càncer de pròstata)



ARV-110

Arvinas Receives Fast Track Designation for its Targeted Protein Degradar ARV-110 as a Treatment for Men with Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer. Arvinas, Inc. Published May 29, 2019. <https://bit.ly/2wrTs44>. Accessed May 29, 2019.

Disseny estructures

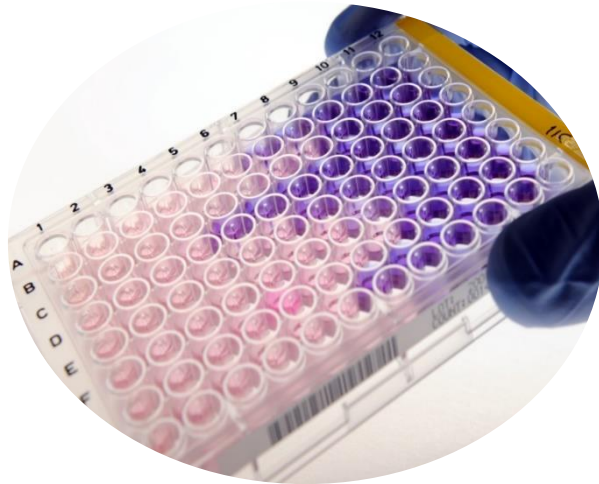
- **Dr. Jaime Rubio**, Full Professor. Head of Modelling of Biological Systems and Drug Design Research Group, Department of Materials Science and Physical Chemistry, University of Barcelona (UB); and Institute of Theoretical and Computational Chemistry (IQTCUB. María de Maeztu unit)

Síntesi compostos

- **Enric Lizano, PhD**
- **Marta Vilaplana, PhD**
- **Miquel Viñas, PhD**
- **Daniel Jahani, PhD student**
- **Jaume Ginard, PhD student**
- **Josep Vilardell, PhD student**
- **Achraf Hibot, PhD student**
- **Joan Vilalta, Master student**

Col·laboracions

1. Resultats biològics



- **Dr. K. Pors.** Institute of Cancer Therapeutics de la Universidad de Bradford (Reino Unido)
- **Dra. M. Cascante.** Laboratori Bioquímica UB
- **Dra. M. Piñeiro.** Laboratori Eli-Lilly (Indianapolis)
- **Dra. Juana Fernández.** Idibell (Bellvitge)
- **Dra. N. Agell.** Dept. de Biologia Celular, Immunologia y Neurociencias de la Facultad de Medicina (Hospital Clínico). UB
- **Dra. Rosa Pino, Dra. Olga Abían i Dr. Víctor López.** Facultad de Farmacia. Universidad San Jorge de Zaragoza
- **CEREP.** Eurofins Discovery. França



Universidad Zaragoza



UNIVERSITAT DE
BARCELONA

Eurofins, CEREP
France



**IDI
BELL**

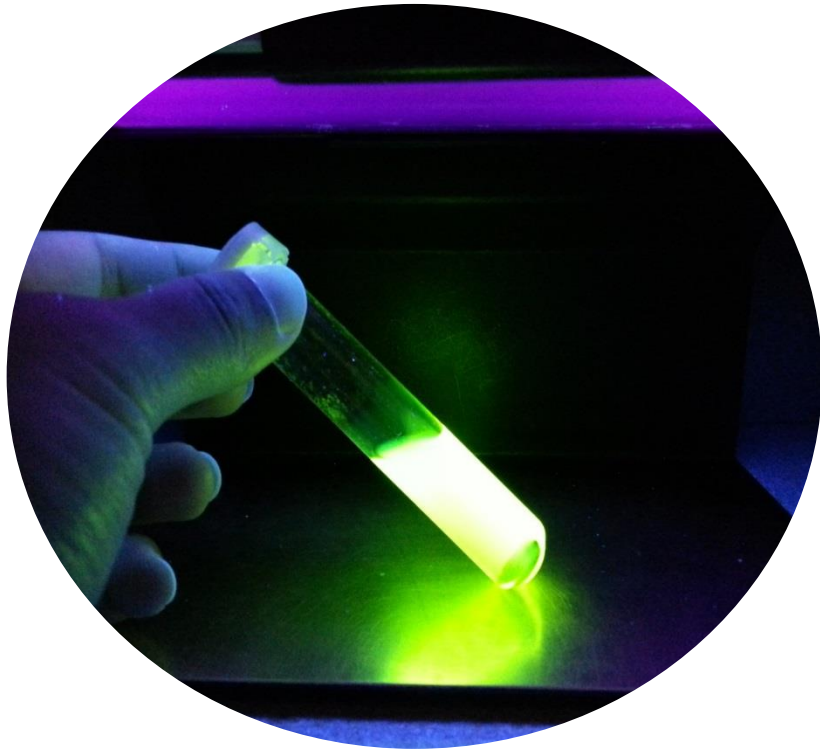
Lilly



UNIVERSITY of
BRADFORD

Col·laboracions

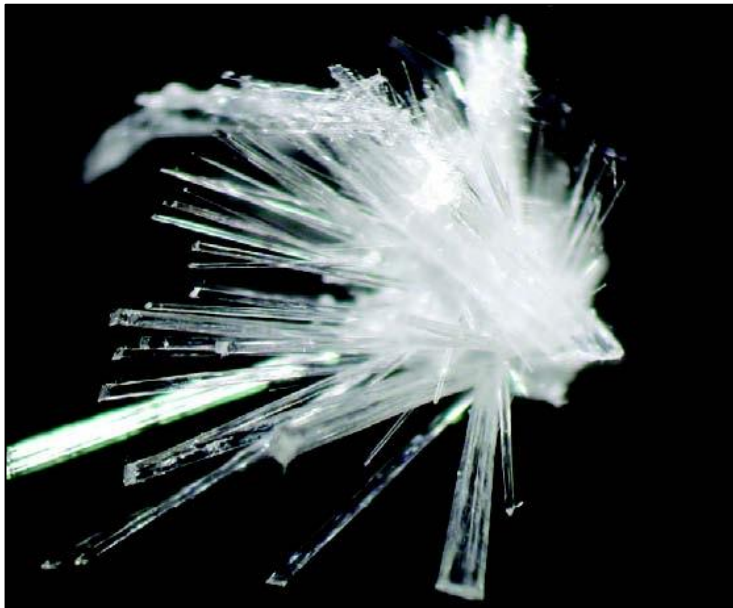
2. Estudis Fluorescència



- **Dr. J. Estelrich i Dra. M. A. Busquets.** Laboratori Físico-Química. Fac. Farmàcia. UB. Determinació de la fluorescència i quantificació
- **Dr. K. Pors.** Institute of Cancer Therapeutics de la Universitat de Bradford (Regne Unit). Estudi del recorregut del compost fluorescent dins la cèl·lula (estudis *in vitro*)

Col·laboracions

3. Cristal·lització Lligand-enzim i difracció de raigs X



- Dra. Carla Mattos. Research group at Northeastern University, BOSTON

<https://hoy.com.do/saber-de-ciencia-un-material-de-proteinas-cristalizadas/>



UNIVERSITAT DE
BARCELONA

Gràcies
per la seva atenció