

PROJECTO D3B

DRUG DISCOVERY & DEVELOPMENT @ BIOALVO

QREN SI I&DT PROJECTOS INDIVÍDUAIS Nº 1413
LISBOA-01-0202-FEDER-00113

Descrição do Projecto

As doenças neurodegenerativas e de sistema nervoso central (SNC) serão o grande desafio em termos de saúde humana para as próximas décadas. O termo doença neurodegenerativa inclui um conjunto de patologias com diferentes causas e sintomas, que têm em comum o facto de apresentarem um compromisso da função cerebral normal. A doença neurodegenerativa mais comum é a Doença de Alzheimer, estimando-se que 50-75% dos casos de demência no mundo inteiro se associem a esta patologia. O aumento da esperança de vida da população mundial conduzirá a um envelhecimento da população que fará crescer substancialmente a incidência de casos de doenças neurodegenerativas. A Organização Mundial de Saúde estima que esta categoria de doenças seja a segunda maior causa de morte no ano 2040, superando assim a morte por cancro. Acresce que não existe actualmente uma solução terapêutica eficaz para as doenças neurodegenerativas, o que torna premente o investimento imediato no desenvolvimento de novas abordagens aplicadas à descoberta de terapias para este conjunto de doenças de impacto social tão dramático.

A BIOALVO é uma empresa que desenha e estabelece programas de descoberta e desenvolvimento de drogas com aplicação terapêutica em doenças neurodegenerativas e de SNC. A área terapêutica de eleição da BIOALVO representa já o segundo maior segmento do mercado farmacêutico mundial, precedido apenas pelo sector oncológico. O Projecto D3B tem como objectivos globais a criação de ferramentas de excelência para aplicação em programas de descoberta de drogas e a utilização dessas ferramentas na identificação e desenvolvimento de novos fármacos para tratamento de doenças neurodegenerativas e de SNC.

A descoberta e desenvolvimento de uma molécula com acção terapêutica (doravante designada por **droga**) é um processo complexo cujo objectivo é a introdução de uma nova molécula no mercado farmacêutico (Figura 1).

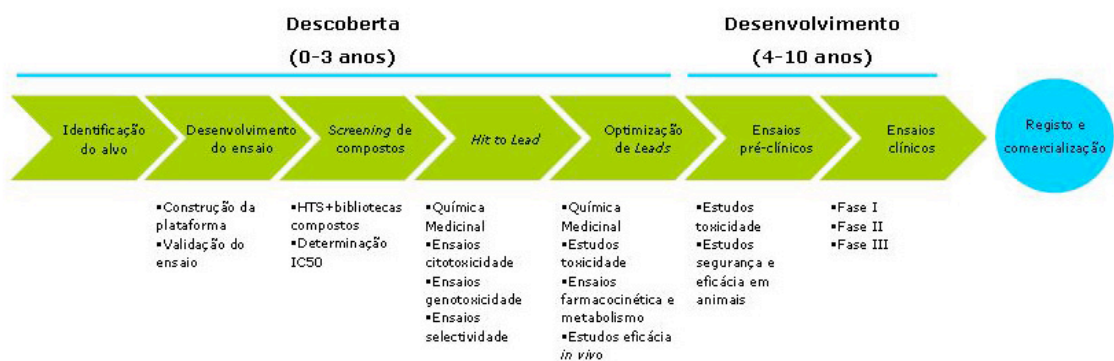


Figura 1: Processo de descoberta e desenvolvimento de drogas

O primeiro passo deste processo é a identificação de um **alvo terapêutico**, seguido do desenvolvimento de uma **plataforma de teste** e respectivo **ensaio experimental** que permitam identificar moléculas com acção no alvo escolhido. O ensaio experimental consiste na avaliação do efeito de milhares de moléculas sobre a plataforma terapêutica, utilizando para o efeito sistemas robóticos que permitem um alto débito de *screening* (**High Troughput Screening** – HTS). As moléculas seleccionadas no *screening* (denominadas de **hits**) são posteriormente analisadas de forma a identificar famílias com características químicas comuns. Cada família é analisada relativamente à potência, propriedades físicas e químicas, facilidade de síntese prevista, custo dos reagentes, capacidade de *scale-up* da síntese, selectividade biológica e espaço químico livre de propriedade intelectual em redor da estrutura inicial. Neste passo, através de uma análise de química médica, os vários *hits* são agrupados em função da sua relação estrutura-função com o objectivo de identificar as características químicas responsáveis pela actividade biológica específica e pelas qualidades essenciais a uma droga que se pretende que seja administrada preferencialmente por via oral. A análise de química médica inclui a síntese de análogos com características químicas melhoradas, que devem ser re-testados na plataforma de *screening* inicialmente utilizada, de forma a validar a sua maior potência. Simultaneamente, os *hits* e novos análogos são avaliados em termos de citotoxicidade e genotoxicidade em culturas celulares. A informação daqui resultante será integrada na análise de química médica e permitirá, juntamente com os resultados da potência no *screening*, identificar um conjunto mais restrito de moléculas que reúnam as melhores condições de potência/toxicidade – moléculas **lead**. Ainda nesta fase do processo, designada por **hit-to-lead**, as moléculas são avaliadas em ensaios preliminares de ADME (*absortion, distribution, metabolism and excretion*) com o objectivo de aferir

propriedades tais como a estabilidade metabólica, a ligação a proteínas do plasma, a permeabilidade intestinal e a solubilidade. Finalmente, as estruturas químicas mais promissoras entram numa fase de **optimização de leads**, em que se procura atingir a “prova de princípio” num modelo animal da doença que seja globalmente reconhecido. Em simultâneo, ensaios de ADME rigorosos atestam as propriedades de “droga” de cada molécula em estudo. Novamente, todos os resultados obtidos são integrados de ponto de vista de química médica, com o objectivo de gerar novas moléculas com propriedades químicas de potência e ADME/toxicidade optimizadas. No final desta etapa de optimização, um número muito restrito de moléculas candidatas segue para a fase de **ensaios pré-clínicos**. A entrada em ensaios pré-clínicos marca o início da fase de desenvolvimento de uma droga. Nesta altura, as moléculas candidatas a droga já demonstraram ter uma actividade promissora contra um determinado alvo terapêutico. Contudo, muito pouco se pode concluir relativamente à segurança, toxicidade, farmacocinética e metabolismo de cada molécula em humanos. O objectivo dos ensaios pré-clínicos é o de avaliar todos estes parâmetros previamente às experiências em seres humanos. Mais ainda, nesta fase do desenvolvimento da droga é necessário aferir uma dose inicial segura a ser usada nos ensaios clínicos. Para este efeito, as moléculas *lead* que são seleccionadas para ensaios pré-clínicos são testadas tanto *in vitro* como *in vivo* (duas espécies) em termos de toxicologia, genotoxicologia e segurança farmacológica. A última etapa antes do registo de uma nova droga consiste na realização de **ensaios clínicos**, divididos em três fases sucessivas: Fase I, Fase II e Fase III. Resumidamente, nos ensaios clínicos de Fase I estão envolvidos 20-100 voluntários saudáveis e são testadas a segurança e a dosagem da molécula candidata. A Fase II consiste na administração da molécula candidata a um grupo de 100-500 doentes e tem como objectivo avaliar a eficácia e os efeitos secundários do tratamento. Por fim, a Fase III implica o tratamento de um vasto número de doentes, 1000-5000, com vista a analisar os efeitos da utilização a longo prazo (1-4 anos) e a comprovar a eficácia anteriormente verificada. A conclusão com sucesso dos ensaios clínicos de Fase III possibilita que a molécula em causa seja submetida como candidata a nova droga a uma agência reguladora credenciada e posteriormente **registada e comercializada** no mercado farmacêutico. Actualmente, são ainda realizados ensaios clínicos de Fase 4, em que se acompanha a utilização de uma droga **depois de comercializada**, com o objectivo de aferir a sua eficácia e segurança a longo prazo.

Hoje em dia, procuram conciliar-se dois parâmetros essenciais na área de descoberta de drogas: especificidade do ensaio e capacidade de alto débito. O alto débito é geralmente assegurado pela utilização de testes *in vitro* (ou seja, num tubo de ensaio), em que a simplificação do processo fisiológico que envolve o alvo terapêutico confere vantagem em termos de rapidez do ensaio. No entanto, *screenings* celulares secundários ao ensaio *in vitro* revelam frequentemente que as moléculas identificadas *in vitro* não possuem as mesmas características de actividade quando analisadas num contexto de complexidade celular. Por outro lado, a utilização de ensaios *in vitro* não permite aferir características de citotoxicidade inerentes às moléculas testadas. Por estas razões, o vantajoso alto débito associado aos ensaios *in vitro* muitas vezes não é compensado, já que uma parte significativa das moléculas identificadas se revela ineficaz ou tóxica num ensaio celular. As plataformas de descoberta de drogas desenvolvidas pela BIOALVO têm por base ensaios *in vivo*, realizados em **leveduras humanizadas**, ou seja, leveduras modificadas de forma a expressar o alvo terapêutico humano. A levedura constitui um modelo celular simples e representativo das condições fisiológicas do alvo terapêutico. Mais ainda, encontra-se já cientificamente demonstrado que a levedura recapitula aspectos celulares fundamentais de grande relevância para as doenças neurodegenerativas. Por outro lado, as leveduras são células com características de crescimento muito simples, rápidas e económicas. Assim, através das nossas plataformas de levedura, contornamos a inespecificidade associada aos ensaios *in vitro*, enquanto garantimos as necessidades de alto débito e baixo custo dos programas de descoberta de drogas. Por outro lado, garantimos a detecção precoce de citotoxicidade associada às moléculas em estudo, possibilitando uma resposta estratégica adequada. A esta tecnologia desenvolvida *in-house*, a BIOALVO deu o nome de **GPS D²**® (GPS, de *Global Platform Screening*). Actualmente, esta tecnologia encontra-se diversificada em várias aplicações para segmentos terapêuticos do mercado farmacêutico com extrema necessidade médica. Nomeadamente, a BIOALVO construiu e é detentora da plataforma BLOCKADE para identificação de inibidores da enzima indolamina-2,3-dioxigenase (IDO), da plataforma DISAGGREGATOR I – Tau para pesquisa de drogas com acção terapêutica em Tauopatias, e da plataforma DISAGGREGATOR II – Tau com o mesmo alvo terapêutico da anterior mas direccionada para a identificação de moléculas anti-amiloidogénicas, especificamente.

No âmbito do **projecto D3B** a BIOALVO pretende dar continuidade a dois processos de descoberta de droga actualmente em curso na empresa: a identificação de inibidores de IDO e a identificação de moléculas modeladoras de

Tauopatias. Em concreto, pretendemos levar as moléculas candidatas até às fases pré-clínicas de cada um dos processos. Adicionalmente, propomo-nos construir duas novas plataformas para *screening* de novas drogas para a Doença de Alzheimer e para a Doença dos Pezinhos. Finalmente, dado o carácter inovador das nossas plataformas e as contínuas solicitações do seu uso por parte de terceiros, é nosso objectivo desenvolver de um kit comercializável e inovador para HTS de compostos com potencial terapêutico, tendo por base a tecnologia *GPS Drug Discovery*[®] desenvolvida pela BIOALVO.