

La química combinatoria al tombant de segle

Isabel Masip i Àngel Messeguer

Departament de Química Orgànica Biològica, IIQAB, CSIC, ampqob@cid.csic.es

La química combinatoria comprèn el disseny i la síntesi eficient i ràpida de col·leccions de composts (quimiotèques) per ésser avaluats davant dianes seleccionades. Aquesta tecnologia ha contribuït al desenvolupament d'una metodologia sintètica molt variada (fase homogènia i heterogènia, automatització i robòtica, disseny *in silico*, tècniques analítiques, etc.). Els èxits aconseguits per la química combinatoria justifiquen l'impacte que ha assolit en els sectors acadèmic i industrial en aquest canvi de segle.

Combinatorial chemistry deals with the efficient and rapid design and synthesis of collections of compounds (libraries) to be screened towards targets of selected significance. In addition, this technology has contributed to the development of different methodologies (synthesis in homogeneous and heterogeneous phase, automation and robotics, *in silico* design, analytical techniques, etc.). The success achieved by combinatorial chemistry accounts for its impact in academia and industry at the turn of this century.

L'última dècada del segle xx ha aportat poques novetats conceptuals en el camp de la química. Aquesta disciplina científica s'ha sumat al corrent general del pensament científic i del pensament més general, en què solen prevaler objectius més immediats i tangibles, amb un lloc destacat per a l'aplicació tecnològica dels avenços aconseguits. L'oportunitat o no que la comunitat científica només sigui estimulada per aprofundir en els problemes tecnològics no entra dins el contingut d'aquest article, però alguna de les seves conseqüències sí que ho fa.

Per aclarir allò de què es parlarà, convé introduir els conceptes bàsics. La *química combinatoria* és una tecnologia que fa possible la construcció ràpida i eficient de col·leccions de molècules amb trets estructurals comuns, anomenades quimiotèques o biblioteques. En realitat, la definició de química combinatoria ha estat un tema de discussió durant els darrers anys, tenint en compte fonamentalment el tipus de metodologia emprada per construir les col·leccions de molècules i la personalitat més o menys vigorosa dels autors implicats en les propostes. Amb tot, en un glossari de termes sobre química mèdica publicat l'any 1999, la IUPAC defineix el concepte de quimioteca combinatoria (el terme *quimioteca* és de collita pròpia i ens hi decantem per sobre de *biblioteca*) com «el conjunt de composts preparats per síntesi combinatoria». I defineix la *síntesi combinatoria* com «el procés per preparar conjunts grans de composts orgànics a partir de les combinacions de conjunts de blocs bàsics (*building blocks*)». Davant definicions tan generals (i ensems restrictives, en referir-se únicament a composts orgànics), hi ha autors, com ara Morton Meldal, que consideren quimiotèques combinatories solament

aquelles en les quals «el nombre de composts sintetitzats s'incrementa de manera exponencial amb el nombre de sèries d'etapes d'acoblament executades». Aquesta definició deixa fora de l'àmbit combinatorial el procés conegut com a *síntesi múltiple en paral·lel*, de la qual es parlarà més endavant. Tot i tenir en compte aquesta darrera precisió, en aquest treball es parteix del concepte de quimioteca combinatoria més general, si bé estenent els components de les quimiotèques a tota la taula periòdica.

El concepte de quimioteca no hauria d'ésser nou. Una de les fonts tradicionals de recerca de molècules actives és el món vegetal. I què és una planta sinó una quimioteca natural de metabòlits secundaris, de la qual —també és veritat— desconeixem els productes que la componen i la concentració relativa en què s'hi troben, a diferència del que passa amb les quimiotèques sintètiques? D'altra part, com considerem l'estratègia del nostre sistema de defensa davant l'agressió d'un agent immunogènic, sinó com la resposta a través d'una quimioteca d'anticossos que per interacció amb aquell agent seleccionarà i expressarà amb preferència els més efectius per neutralitzar-lo?

El fet que la comissió de la IUPAC encarregada d'elaborar un glossari relacionat amb la química combinatoria sigui de l'àrea de la química mèdica no és casual, sinó conseqüent amb la història d'aquesta tecnologia. Va ésser precisament a les àrees biomèdica i biotecnològica on va néixer i on adquirí l'empenta suficient per assolir el nivell actual. El desenvolupament de les tècniques d'avaluació d'activitats biològiques *in vitro* experimentat a partir dels anys vuitanta, tot fent possible el tractament de nombroses mostres i l'automatització i posterior robotització de molts assaigs, va invertir la situació

clàssica dels laboratoris d'investigació biomèdica. Si fins llavors l'assaig farmacològic era el coll d'ampolla del procés de descobriment de fàrmacs (la quantitat de molècules que els equips de síntesi eren capaços de subministrar saturava sovint la capacitat dels equips que les avaluaven), a partir d'aquella època ho passà a ésser la producció de prou molècules per assajar. Així, doncs, la capacitat d'assajar milers de molècules per setmana creà la necessitat de sintetitzar, en poc temps i de manera eficient, també milers de composts. Parlem del començament dels anys noranta.

D'altra part, els costos de la posada al mercat d'un nou fàrmac, entre 400 i 600 milions d'euros, forçaren la indústria farmacèutica a escurçar totes les etapes implicades en el desenvolupament de fàrmacs. Pel que fa a la fase preclínica, ben aviat es va pensar que l'aproximació combinatòria, juntament amb la robotització dels assaigs, contribuiria d'una manera notable a l'optimització de temps i recursos, com així ha estat.

Un altre concepte bàsic en el camp de la química combinatòria és el de *diversitat*. De fet, l'objectiu principal a l'hora de dissenyar i sintetitzar quimiotèques és l'exploració de la diversitat química per a una finalitat determinada. Pot haver-hi la sensació que els químics, particularment els orgànics, ja han explorat a bastament el seu univers estructural. No obstant això, aquesta percepció és errònia. Tan sols com a exemple, citem els càlculs de Guida i col·laboradors pel que fa als composts orgànics: si es volgués preparar un mil·ligram de cadascun dels composts de menys de trenta àtoms formats per combinació de C, H, N, O, S, P, S, F, Cl i Br de totes les maneres possibles que mantinguin una coherència estructural, s'obtidrien de l'ordre de 10^{62} molècules. Per tenir una idea comparativa, seria la massa d'un protó respecte a la del Sol. Imagineu si hi ha feina per davant, i més si s'eixampla el ventall de possibilitats a tota la taula periòdica!

Amb tot, si es fixa una divisió, amb molts punts de frontera i extenses zones compartides, entre química orgànica i inorgànica, el que resulta fàcil d'entendre és el ressò i les aplicacions que han trobat les quimiotèques de molècules orgàniques, siguin d'oligòmers o basades en un esquelet (*scaffold*). La teoria estructural i de reactivitat està molt més avançada en aquest domini de la química, cosa que ha facilitat molts aspectes metodològics i també ha fet possible l'espectacular adaptació d'altres de menys explorats fins ara fa deu anys, com ara la

síntesi orgànica sobre fase sòlida. En canvi, la química inorgànica es troba menys sistematitzada i al mateix temps manca de prou eines de seguiment de reaccions i anàlisi estructural de productes en línia, especialment pel que fa referència a l'estat sòlid. Aquests punts són particularment rellevants en l'àrea de química combinatòria per identificar nous materials.

Els formats en química combinatòria

Hi ha dos tipus de formats de quimiotèques: el de *mescles controlades* i el de *composts individuals* (figura 1). Una quimioteca de composts individuals és aquella en la qual a cada reactor se sintetitza un producte. En aquestes condicions, la identificació del compost responsable d'una activitat determinada és directa. La *síntesi múltiple en paral·lel*, fàcilment automatitzable i robotitzable, és la metodologia que es fa servir per construir les quimiotèques. Es tracta d'anar fent les diferents etapes de la síntesi de forma paral·lela i simultània a tots els reactors, introduint la diversitat que pertorqui a cadascun d'ells en l'etapa corresponent.

En canvi, a les quimiotèques de mescles controlades cada reactor conté una barreja de productes; llavors, la identificació de la molècula o molècules més actives en l'assaig corresponent necessita un procés anomenat deconvolució. Mitjançant aquest procés i recorrent a la lògica de la construcció de les mescles, es pot tirar enrere i acabar identificant els productes responsables de l'activitat assajada. Els dos formats més emprats a les mescles són el de separació i mescla (*split and mix*) i el de rastreig posicional (*positional scanning*), que operen tots dos sobre suport sòlid.

El format de separació i mescla consisteix en la repetició de tres operacions: divisió del suport sòlid en tantes porcions com diversitat s'ha d'introduir, acoblament de cada porció per separat amb una font de diversitat i mescla de les diferents porcions de resina, per tornar tot seguit a separar-les. El procés es repeteix *n* vegades. Com es veu, es treballa amb mescla de suports, però cada gra d'aquest suport només contindrà un producte (del qual sempre es coneixerà l'última font de diversitat acoblada) i sempre hi haurà hagut un reactiu per reactor (figura 2).

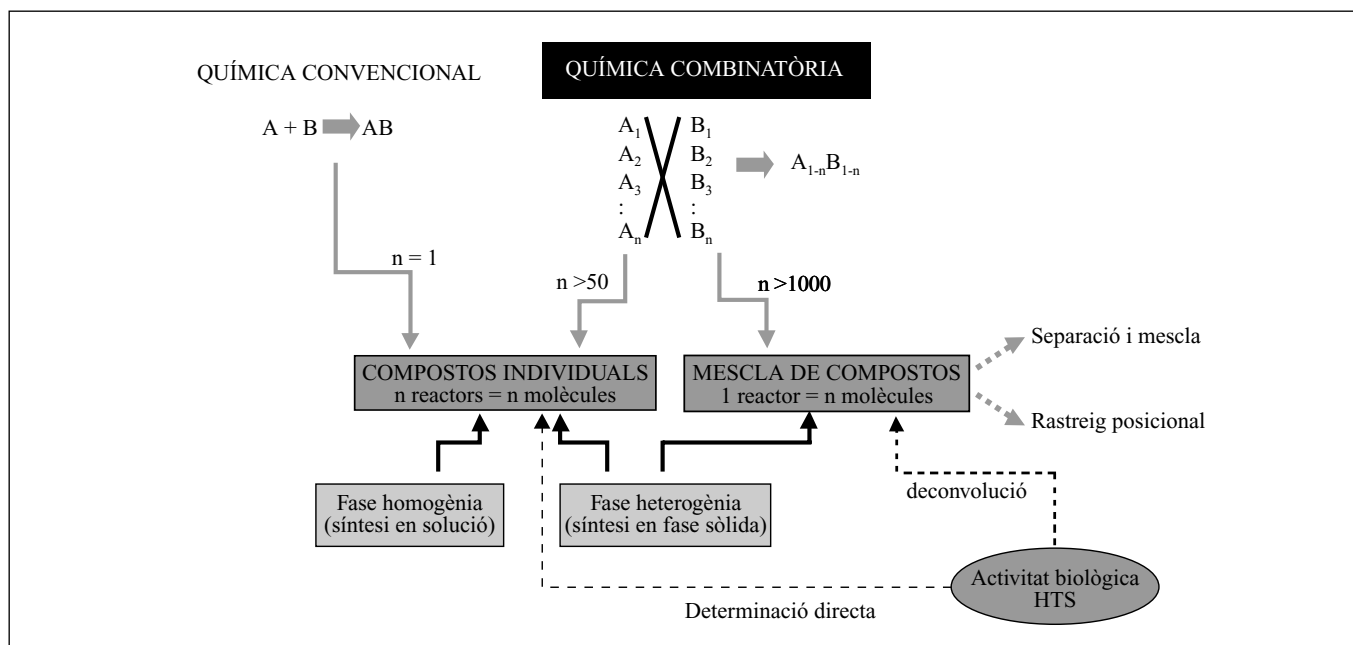


FIGURA 1. Esquema bàsic de la química combinatòria.

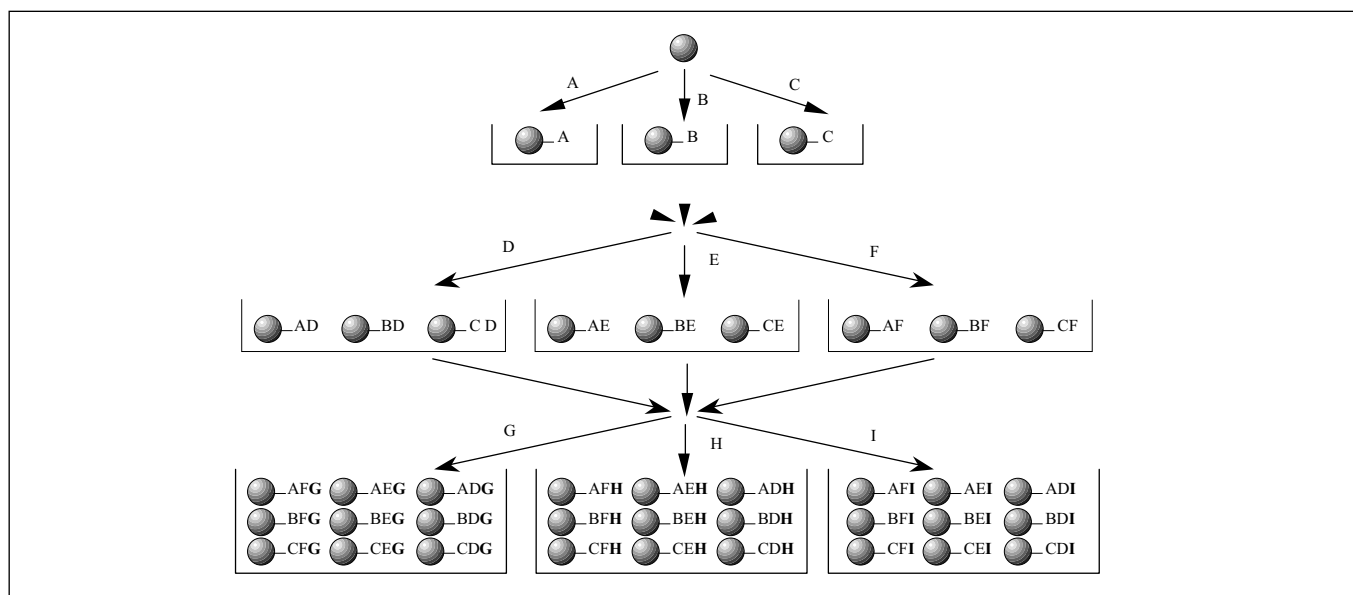


FIGURA 2. Esquema general de síntesi amb el format de partició i mescla (*split and mix*).

En el format de rastreig posicional s'empra una mescla de reactius i se sintetitzen tantes subquimiotèques com posicions de diversitat s'hagin d'introduir. Aquestes subquimiotèques contindran la totalitat dels productes de la quimioteca, però organitzats de forma diferent en cada mescla. De fet, cada subquimioteca contindrà una posició definida i coneguda, mentre que a les altres hi haurà una mescla de totes les fonts

de diversitat possibles. En treballar amb mescles de reactius, aquí és molt important conèixer la reactivitat relativa de les diferents fonts de diversitat, a fi que la mescla contingui els productes en quantitats aproximadament equimoleculares. Una distribució descompensada dels components de la mescla pot conduir a resultats enganyosos a l'hora de l'avaluació de la quimioteca.

Tant amb el format de composts individuals com amb les mescles, la química combinatòria trobà en la *síntesi orgànica sobre fase sòlida* el suport indispensable per arrencar i consolidar-se. Recordem que les primeres quimiotèques estaven constituïdes per oligòmers de pèptids, i que les van seguir immediatament les d'oligonucleòtids i altres estructures relacionades (el cas dels oligosacàrids no es desenvolupà fins més tard, a causa de les dificultats sintètiques que comporta). L'experiència en síntesi peptídica sobre suports polimèrics de què es disposava a finals dels anys vuitanta justifica la facilitat amb la qual es pogué transvasar a la construcció de quimiotèques.

Això no obstant, cal subratllar que, salvant comptades excepcions (una de les quals es desenvolupà als laboratoris del CSIC de Barcelona als anys setanta, gràcies a la visió premonitòria del grup del Dr. Josep Castells), la síntesi orgànica no estava adaptada a la fase sòlida. Anant més enllà, a molts laboratoris apareixia com una manera no gaire elegant de fer síntesi, a causa de les dificultats per seguir el curs de les reaccions, la necessitat d'emprar excessos grans de reactius i els problemes de purificació finals. Aquest panorama experimentà un sotrac important entrada la dècada dels noranta, quan la química combinatòria inicià la seva expansió. Confirmat el potencial de la tecnologia, fet palès en el cas de les quimiotèques d'oligòmers, calia estendre'l al de les molècules orgàniques en general. Per assolir aquesta finalitat, era necessària la implementació a la fase sòlida de tota la metodologia sintètica desenvolupada en fase soluble al llarg de més d'un segle.

L'esforç portat a terme en aquesta direcció ha comportat que en uns quants anys pràcticament tota aquella metodologia s'hagi traslladat a la fase sòlida, amb resultats prou satisfactoris. Així, doncs, avui el químic té a la seva disposició un ampli ventall de suports sòlids de propietats molt variades i un repertori de reaccions descrites a la bibliografia que permeten afrontar qualsevol problema sintètic amb bones perspectives d'èxit. D'altra banda, la síntesi en fase homogènia, sigui en dissolució o en presència de suports polimèrics solubles, també ha experimentat un desenvolupament notable. En la química combinatòria en dissolució, l'ús de reactius o d'agents segrestadors de reactius suportats sobre resina ha representat una comoditat més per al químic a l'hora de manipular les diverses etapes de síntesi de les quimiotèques. Tots aquests avenços situen la tecnologia en un punt en què, més que escollir entre fase homogènia i fase heterogènia com si fossin

antagòniques, és sovint més convenient plantejar-se la combinació de les dues estratègies, sempre en funció dels objectius cercats.

Anàlisi i validació en química combinatòria

Malgrat els avenços en la metodologia sintètica, és en el procés de seguiment de les reaccions, especialment en la síntesi en fase sòlida, on hom es troba amb els principals problemes, ja que no sempre és possible emprar els mètodes convencionals de la fase soluble, com els cromatogràfics o la ^1H -RMN. S'han d'emprar mètodes indirectes, com els tests de color sobre suport sòlid (tests de Kaiser o d'Ellman), o bé recórrer a l'anàlisi de molècules obtingudes de l'escissió d'una mostra del suport sòlid. Amb tot, en els últims anys s'han desenvolupat tècniques de seguiment de les reaccions sobre suport sòlid que no requereixen l'escissió i que permeten la manipulació d'una petita quantitat de resina. Aquest és el cas de la microespectroscòpia d'IR o de la tècnica MAS RMN (*magic angle spin*), que permet eliminar l'amplada de banda ocasionada per la presència del suport polimèric i obtenir senyals molt definits. L'evolució de les tècniques d'espectrometria de masses quant a sensibilitat i flexibilitat d'acoblament als mètodes cromatogràfics ha facilitat també les anàlisis estructurals dels components de les quimiotèques; actualment és perfectament possible identificar la molècula que es troba lligada a un sol gra de resina, cosa que ha representat un gran pas endavant per treballar amb el format de separació i mescla.

Un cop acabada la síntesi, la validació d'una quimioteca combinatòria és un aspecte clau, atès que garanteix la bondat de la tecnologia i dona fiabilitat a l'ús de les quimiotèques. Una crítica important sobre aquesta tecnologia ha tingut com a base la qualitat de la feina, no els seus aspectes conceptuals. En plena cursa per veure qui feia més quimiotèques i qui les feia més de pressa i més grans, hom va descuidar els vessants de la qualitat i la validació. Aquestes mancances foren particularment greus en el cas de les quimiotèques de mescles controlades. En alguns casos, el cost d'aquestes col·leccions no anava d'acord amb la capacitat per identificar de manera inequívoca els composts individuals responsables d'una activitat determinada. Cal pensar que, en definitiva, el químic ha d'anar a parar, com ha passat des de sempre, a la síntesi del

producte pur i tenir capacitat de demostrar-ne l'estructura proposada. Així, doncs, la validació d'una quimioteca demana la constatació que tots els composts que han d'ésser-hi hi siguin, i que es pugui demostrar la seva puresa i la seva estructura.

Tractant-se de quimiotèques de composts individuals, la validació es pot fer de manera directa si es tenen els recursos instrumentals adients (HPLC o electroforesi capil·lar, acoblats a espectrometria de masses, RMN, etc.). Ara bé, en el cas de mescles, la validació és més complexa, però també s'ha d'exigir. Així, doncs, una vegada fet el cribratge d'una quimioteca de mescles davant una diana determinada, cal procedir a la deconvolució. Com s'ha dit abans, per deconvolució s'entén el procés mitjançant el qual es fa ús de la lògica amb què s'ha construït la quimioteca, a fi d'anar enrere de manera sistemàtica fins a arribar a la identificació del o dels composts responsables dels positius observats en el cribratge de les mescles. Segons que s'hagi emprat un format de mescla o un altre, la deconvolució té unes pautes diferents, però ben determinades, i només cal seguir-les amb rigor per validar la quimioteca. En el format de separació i mescla, amb la certesa que cada gra de resina conté tan sols un compost, la deconvolució implica un procés iteratiu per identificar les fonts de diversitat dels productes actius, començant per l'última. En el format de rastreig posicional, el cribratge informa de les fonts de diversitat preferides a cada mescla, de manera que l'anàlisi dels resultats condueix al plantejament de la síntesi de totes les estructures individuals que resultin de la combinació de fonts de diversitat seleccionades.

Amb tot, treballar amb una quimioteca de mescles, malgrat que hagi estat validada, té riscos inevitables. Aquests són bàsicament de dos tipus: falsos positius i falsos negatius. Els primers vindrien com a conseqüència de la suma de petites respostes positives en el cribratge per part de molts components d'una mescla. A l'hora d'arribar a la selecció dels responsables últims de l'activitat buscada, guiats pel procés de deconvolució, ens trobaríem amb respostes molt minses de cadascun d'ells. Aquest és l'inconvenient principal de la manipulació de les mescles i la raó per la qual es troben qüestionades per molts usuaris, sobretot del sector industrial. Quant als falsos negatius, es refereixen a aquells productes actius de la mescla que es perden perquè estan diluïts en una barreja que pot contenir-ne d'acció contrària a la cercada (per exemple, agonistes i antagonistes d'una diana farmacològica).

D'altra banda, per facilitar la identificació de molècules actives dins la quimioteca, i especialment en els casos en què la quantitat de producte és insuficient per poder efectuar estudis estructurals, s'han desenvolupat sistemes de codificació que permeten identificar el contingut d'una boleta de resina (i, per tant, els composts més actius) sense necessitar arribar a la deconvolució. Aquests sistemes poden estar basats en etiquetes de tipus químic o bé en codificadors no químics. Entre el primer tipus destaquen les oligonucleotídiques i les peptídiques, com també les haloaromàtiques, les quals es basen a anar introduint diferents seqüències de codificació de forma paral·lela a la introducció de diversitat de la quimioteca. Les etiquetes no químiques, per la seva banda, es basen en la utilització de microxips codificables per radiofreqüència o de codis de barres obtinguts amb làser de CO₂ sobre plaques ceràmiques.

Durant els primers anys de desenvolupament de la química combinatòria sorgiren diversos temes de discussió al seu voltant. Els més importants foren: si la síntesi era més adient en dissolució o en fase sòlida, si seria possible l'adaptació de la metodologia sintètica coneguda a la fase sòlida, quines haurien d'ésser les dimensions adequades de les quimiotèques i si s'havia de treballar amb mescles o amb composts individuals. En els paràgrafs precedents s'ha donat la visió actual dels dos primers temes. Quant a la dimensió de les quimiotèques, al començament hi hagué la fal·lera de construir-les com més grans millor. Dels centenars de composts, es passà als milers i fins i tot als milions, particularment per al cas dels oligòmers i en format de mescles. La introducció de les quimiotèques de molècules orgàniques més convencionals obligà a una reducció d'aquestes aspiracions, la qual s'accentuà quan la síntesi múltiple en paral·lel aplicada a objectius ben focalitzats es va anar imposant. També és veritat que col·leccions de deu o vint composts ja se'ls bateja com a biblioteques, i en aquests casos el concepte de prestatgeries hi escauria més. Actualment, però, s'ha arribat a una situació més estable, en què els centenars o com a màxim els pocs milers semblen ésser les dimensions adequades per manipular i treure profit d'una quimioteca.

El tema dels composts individuals o mescles és tal vegada el més discutit. Com es comenta al llarg d'aquest treball, les quimiotèques de mescles tenen avantatges indiscutibles, però també inconvenients difícils de resoldre. Són sempre una aposta de més risc, mentre que les de composts individuals

ofereixen una fiabilitat més sostinguda, a més de la seva fàcil adaptabilitat a processos d'automatització, tant preparatius com analítics i d'avaluació. En aquest sentit, s'entén que siguin les preferides pel sector farmacèutic, per exemple, i també quan es tracta d'optimitzar una estructura activa.

Tot i els riscos esmentats, la utilització de quimioteques de mesclades controlades ha mostrat la seva vàlua amb prou exemples per tenir-la sempre present, en particular quan es tracta d'identificar positius sobre dianes de les quals no es coneix gairebé res, o bé quan s'assaja la descoberta de productes actius amb estructures no fàcilment predictibles. Aquest darrer cas pot conduir al descobriment de molècules amb prou originalitat estructural per suportar la protecció per a patents, un aspecte que convé tenir en compte.

Nous desenvolupaments conceptuals

El desenvolupament de la química combinatòria no s'ha aturat en els camps descrits anteriorment, sinó que s'han continuat explorant nous aspectes conceptuals i d'aplicació de la tecnologia. Cal destacar-ne tres: les quimioteques virtuals, les quimioteques dinàmiques i la introducció del concepte de genètica química.

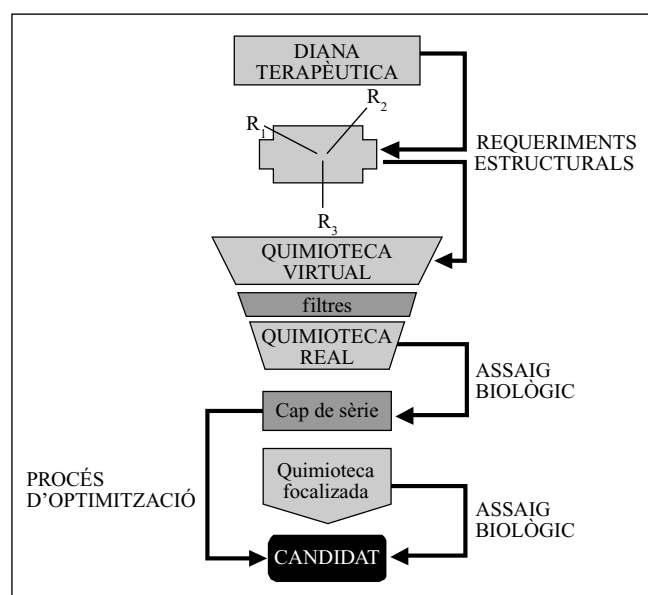


FIGURA 3. Implicació de la química combinatòria en el procés de descobriment d'un nou compost bioactiu.

Una quimioteca virtual és la concebuda *in silico*. El disseny d'aquestes quimioteques es pot plantejar des de diverses aproximacions. Si considerem el descobriment de fàrmacs com a exemple, amb les eines disponibles avui, tant de disseny molecular com d'assequibilitat de bases de dades de molècules actives, és possible (i diríem encara més: és absolutament recomanable) que, davant la diana terapèutica que constitueix l'objectiu, es comenci per dissenyar una quimioteca virtual. Aquesta quimioteca tindrà com a base tota la informació disponible sobre la diana (estructura cristal·lina, dades de RMN, moduladors coneguts, etc.), i des del punt de vista químic, els requeriments estructurals adients. Les quimioteques virtuals poden arribar a contenir milers o milions de molècules i seran altres tipus de filtres els que s'hauran d'aplicar per convertir-les en quimioteques assequibles de construcció al laboratori (figura 3). Aquests filtres comprenen avui el mateix cribratge virtual sobre la diana escollida. En el seu conjunt, el disseny de quimioteques virtuals constitueix una valuosa contribució al procés del descobriment de fàrmacs, i alhora una reducció important dels seus costos en la fase preclínica.

Les *quimioteques dinàmiques* han estat desenvolupades fonamentalment pel grup de J. M. Lehn a França. En aquest cas, es treballa amb el concepte de reacció reversible. Els components d'una quimioteca dinàmica es troben formant enllaços covalents reversibles o bé interaccions moleculars del mateix

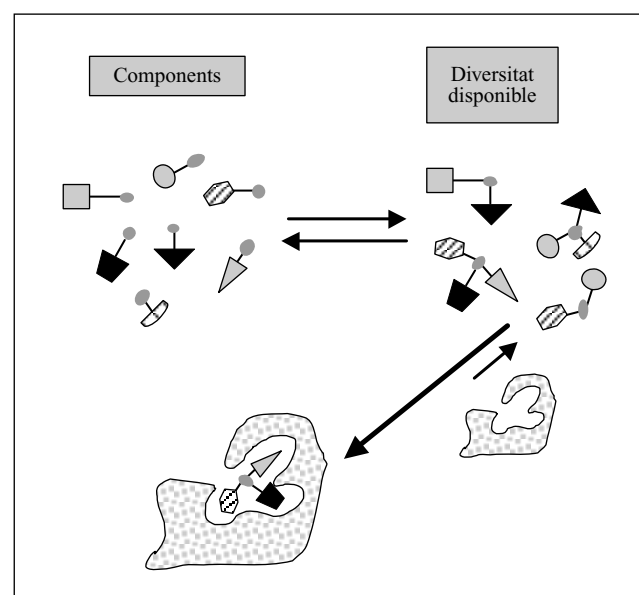


FIGURA 4. Generació d'una quimioteca dinàmica i desplaçament dels equilibris per interacció amb una diana seleccionada.

caràcter. La reacció d'un àcid amb un alcohol, la formació d'imes o d'acetals o la generació de ponts disulfur entrarien en el primer grup, mentre que la coordinació de lligands a un centre metàl·lic, l'enllaç d'hidrogen o la isomerització *cis-trans* són exemples d'interaccions moleculars reversibles. En certa manera, una quimioteca dinàmica és un altre tipus de quimioteca virtual, en la qual, en teoria, tots els possibles components poden ésser presents en un moment donat, si bé en proporcions prou diferents. Serà la interacció preferent amb una diana determinada la que produirà els desplaçaments d'equilibris que condueixin a la generació, també selectiva, dels components més actius, cosa que permetrà identificar-los en els casos favorables (figura 4). Ara com ara, ultra el seu valor científic com a eina d'estudi, les quimiotèques dinàmiques han trobat aplicació en la identificació de composts bioactius i també en la de polímers, nous materials i nanoestructures.

Finalment, el concepte de *genètica química*, introduït per S. L. Schreiber, de la Universitat de Harvard, també ha constituït un avenç destacable en la utilització de la química combinatòria. Una manera d'entendre la funció cel·lular d'una proteïna és alterar-ne la funció. Per aconseguir-ho, l'aproximació genètica emprà la generació de mutacions inactivadores en els gens que codifiquen la proteïna. Schreiber proposa la utilització de molècules orgàniques per alterar la funció proteica mitjançant la unió com a lligand. En aquest sentit, actuarien com una mena de *knock out*. L'objectiu final d'aquesta estratègia seria la identificació d'una molècula petita per a cada proteïna, amb l'avantatge que, a més d'alterar la funció proteica, posteriorment es podrien aplicar les molècules per controlar-la. És aquí on entra la química combinatòria. L'equip de Schreiber s'ha dedicat a construir quimiotèques d'anàlegs de productes naturals i a emprar-les per fer cribratge del fenotipat cel·lular i identificar proteïnes diana. Un dels

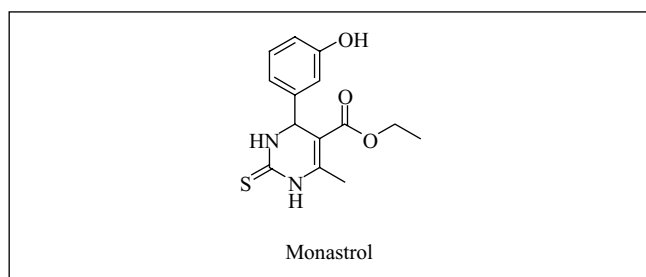


FIGURA 5. Estructura del monastrol, un inhibidor de la divisió cel·lular identificat mitjançant l'estratègia combinatòria aplicada a la genètica química.

resultats més espectaculars, l'aconseguí amb la identificació de la Eg5, una proteïna involucrada en la divisió cel·lular, a través de la unió com a lligand del monastrol, una molècula orgànica continguda en una quimioteca de més de 16.000 components (figura 5).

Aplicacions de la química combinatòria

Com s'ha dit a la part introductòria, les primeres aplicacions de les quimiotèques combinatòries pertanyen al terreny de la biomedicina, i d'aquesta branca, en conjunció amb el sector del descobriment de fàrmacs, la tecnologia rebé l'impuls definitiu per desenvolupar-se fins als nivells actuals. En aquest context, les quimiotèques combinatòries pioneres, les d'oligòmers peptídics, trobaren aplicació en el reconeixement de seqüències d'anticossos i en general per trobar lligands peptídics. La repercussió d'aquests resultats conduí a una ràpida exploració de quimiotèques d'altres oligòmers, com ara els oligonucleòtids, els formats amb aminoàcids no naturals i diverses famílies de peptidomimètics (urees, carbamats, sulfonamides, amines, etc.).

Un pas molt important, el constituïren els treballs de J. Ellman, aleshores un investigador molt jove instal·lat a la Universitat de Berkeley, i d'un grup de la companyia farmacèutica Parke-Davis, en els quals s'estenia la química combinatòria més enllà dels oligòmers. Aquests dos grups, fent servir metodologia sobre fase sòlida i el format de síntesi múltiple en paral·lel, publicaren les síntesis de quimiotèques d'heterocicles paradigmàtics en el camp farmacèutic, com ara hidantoïnes i benzodiazepines. Aquests treballs tingueren un gran ressò i obriren un camp amplíssim d'exploració de les possibilitats de la química combinatòria en l'àrea del descobriment de fàrmacs. De llavors ençà, aquesta tecnologia ha trobat aplicacions, totes les quals molt robustes i establertes, en les diferents etapes de la fase preclínica. La figura 3 il·lustra tres punts d'aplicació clau: el disseny i construcció de quimiotèques virtuals, de les quals hem parlat més amunt, la síntesi de quimiotèques focalitzades i l'optimització de caps de sèrie. Amb aquest plantejament, la tecnologia que algú va batejar com a *disseny irracional de fàrmacs* per denotar la irrupció de l'estratègia combinatòria en el camp farmacèutic es troba ja acompanyant-ne d'altres (modelatge molecular, relacions es-

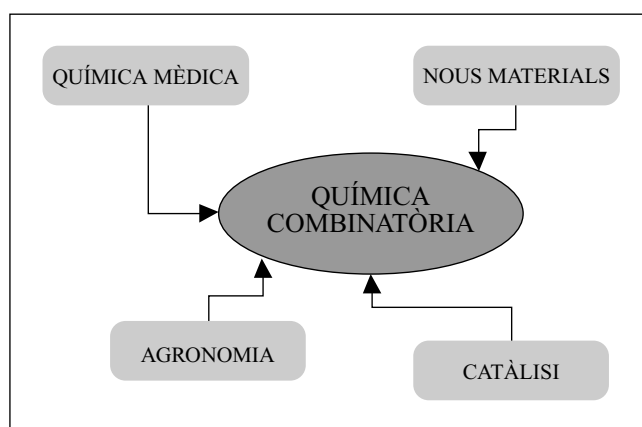


FIGURA 6. Principals aplicacions de la química combinatòria.

estructura-activitat), en un terreny tan racional com el d'aquestes.

L'expansió de la química combinatòria arribà a mitjan anys noranta a d'altres àrees d'interès, com ara l'agronòmica, la de la ciència de materials i la catàlisi (figura 6). En agronomia, aquesta tecnologia s'ha aplicat a la recerca de nous composts bioactius (insecticides, fungicides, etc.) i en estudis de caràcter més bàsic relacionats amb la proteòmica vegetal.

Pel que fa als materials i als catalitzadors, en alguns casos els esforços investigadors han confluït en el mateix objectiu: la catàlisi heterogènia. S. Senkan, un dels pioners d'aquest camp, proposa la definició de *catàlisi combinatòria* per aplegar la preparació sistemàtica, el processament i el cribratge de quimiotèques de materials físicament i químicament diferents, tot fet amb alta eficàcia. La catàlisi combinatòria no solament mostra avantatges quant a rapidesa i costos a l'hora de descobrir nous catalitzadors, sinó que pot contribuir a fer-nos entendre millor la funció catalítica. En aquest camp, la pressió per descobrir nous catalitzadors que ajudin a fer viables processos discutibles des del punt de vista ambiental i econòmic ha exercit l'efecte estimulador que deu anys enrere va portar la indústria farmacèutica a desenvolupar les estratègies de química combinatòria. De fet, la catàlisi combinatòria segueix una trajectòria semblant, si bé amb trets característics, no sempre favorables. La figura 7 mostra els components principals d'aquesta estratègia. Mentre que els aspectes de síntesi i cribratge es troben en ple desenvolupament, el de processament de la informació perquè sigui aprofitable en el disseny de noves quimiotèques està pràcticament a les beceroles. En el terreny de la síntesi, els mètodes de de-

posició de pel·lícules fines i la síntesi en dissolució semblen marcar les tendències més emprades, amb el suport de mètodes estocàstics com ara els algorismes genètics o els de tipus Monte Carlo. Pel que fa al cribratge, els mètodes òptics (espectroscòpia d'infraroig, ionització de multifotons estimulada per ressonància, deflexió fototèrmica) o l'espectrometria de masses es troben entre els més emprats.

D'altra banda, la complexitat i el caràcter dinàmic del fenomen de la catàlisi ha comportat nous reptes a l'estratègia combinatòria. Els catalitzadors heterogenis solen ésser sòlids, amb considerables discontinuïtats pel que fa a la composició i l'estructura; els mètodes de preparació són moltes vegades poc reproduïbles i hi ha una manca de descriptors de diversitat en les mescles en estat sòlid. Tots aquests factors fan difícil la confecció d'estudis sistemàtics. La situació es complica encara més si es considera la mateixa acció catalítica. Un bon catalitzador ha d'afavorir la formació d'un estat de transició adient i energèticament favorable, i els estats de transició s'indueixen per interacció dels substrats en llocs d'acció tridimensional sobre la superfície del catalitzador, la caracterització dels quals és encara molt pobre. En aquest punt intervé, a més, el factor temps. En tot aquest panorama, l'aproximació combinatòria pot aportar informació valuosa a base de subministrar moltes dades, producte del cribratge de quimiotèques, en menys temps que les estratègies més convencionals.

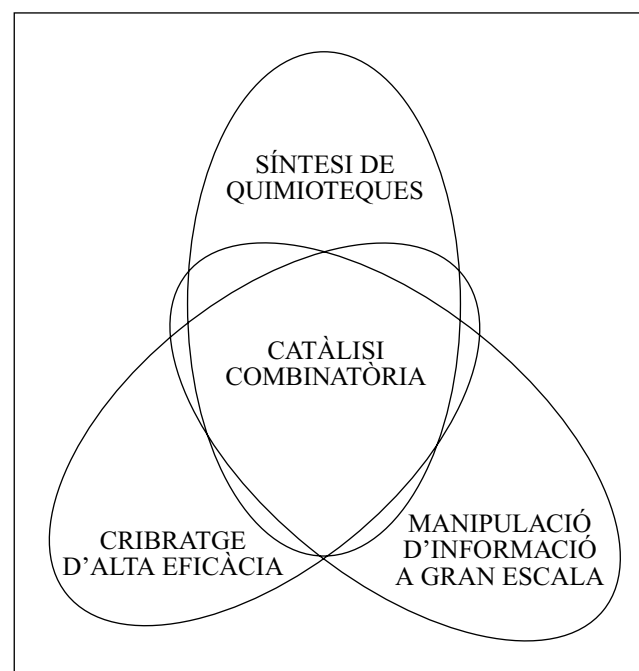


FIGURA 7. Components principals de la catàlisi combinatòria.

De fet, és molt probable que a l'hora de publicar aquest treball, i a causa de la intensitat dels esforços que s'esmercen en aquest camp, ja hi hagi hagut avenços importants en la resolució dels problemes que hem comentat.

La cerca de catalitzadors per a síntesis enantioselectives emprant química combinatòria també ha atret l'interès dels investigadors. Les versions asimètriques de reaccions com l'alquilació d'aldehids, la hidrogenació, l'addició sobre epòxids o la inserció de carbens són exemples estudiats emprant quimioteques de lligands quirals i de centres metàl·lics, en format de composts individuals lligats a fase sòlida o no. De manera paral·lela, s'han explorat quimioteques de biocatalitzadors amb la mateixa finalitat; en aquest context, s'ha fet un ús molt interessant de l'evolució dirigida via mutagènesi a l'atzar o amb mètodes recombinants, per crear diversitat i dirigir l'optimització del biocatalitzador envers una transformació enantioselectiva determinada. En tot aquest camp, la posada a punt d'assaigs per al cribratge ràpid i fiable de quimioteques de molts components ha estat un dels aspectes en què ha calgut fer un esforç més gran, i que ja ha rendit fruits molt importants. Vist en conjunt, es pot dir que la catàlisi combinatòria en fase homogènia, en comparació amb l'heterogènia, ha pogut fer passes més fermes per identificar nous catalitzadors amb propietats substancialment millorades.

Situació actual i tendències futures

La química combinatòria no ha escapat de les modes, dels pics de popularitat i de les manifestacions de desil·lusió inherents a qualsevol novetat. Després d'un començament en què algú somiava que s'ho menjaria tot, que aportaria la solució idònia per identificar ràpidament molècules bioactives o catalitzadors innovadors, es passà a l'època crítica, en la qual sorgien veus que deien que no n'hi havia per a tant i que les expectatives creades entorn de la química combinatòria no s'havien vist satisfetes amb resultats tangibles. Aquesta percepció tampoc no reflecteix la realitat. Per parlar només del camp farmacèutic, del 1992 al 1998, quaranta-sis molècules que han passat a estudis de fase clínica van identificar-se a través del cribratge de quimioteques combinatòries. En aquest sentit, és indiscutible que tots els grans laboratoris farmacèutics disposen d'uni-

tats de química combinatòria, a desgrat de la importància de les inversions que ha calgut fer (paral·lelament a les del cribratge d'alta eficàcia, sense el qual la producció de quimioteques no té gaire sentit). També és una realitat la quantitat de petites empreses que han aflorat, i que encara sobreviuen, entorn d'aquestes tecnologies, en particular als Estats Units i més recentment a l'Europa més desenvolupada. Tot plegat fa pensar que la química combinatòria s'ha consolidat com a eina de síntesi de molècules, complementària a les més convencionals, però amb el valor afegit de subministrar conjunts de diversitat química amb més eficiència i més rapidesa.

Com s'ha vist, la química combinatòria és una aplicació tecnològica basada en conceptes bastant ben establerts en el camp de la química orgànica, potser menys en el de la inorgànica, i que s'ha desenvolupat al llarg dels darrers deu anys per motivacions sorgides en altres disciplines, com ara la biologia, la medicina o la ciència de materials. El disseny i la construcció de quimioteques, objectiu fonamental de la química combinatòria, ha tingut un altre tret característic: llevat de les aportacions conceptuals més innovadores, les quals han continuat emergint del sector acadèmic, la major part de les contribucions provenen del sector privat o de treballs en col·laboració entre aquest i el sector acadèmic. En aquest context, els Estats Units no solament visqueren el naixement de la tecnologia i les primers troballes fonamentals, sinó que han estat el bressol del seu desenvolupament espectacular. Mentre això passava, la gran majoria dels químics europeus continuaven mirant cap a una altra banda. Quan investigadors, empreses, organismes planificadors de recerca dels països europeus i de la mateixa Unió Europea s'han començat a moure, la distància ja era massa gran. Com a conseqüència, l'esforç exigible per assolir uns nivells mínims de competència i trobar aquells nínxols encara poc explorats hauria d'ésser, com en tantes altres branques de la ciència moderna, important i empeltat d'un entusiasme a prova de contínues frustracions.

En aquest context, Catalunya i l'Estat espanyol no es troben precisament per sobre de la mitjana dels països de la Unió Europea, si bé la multiplicació de grups que dediquen esforços al tema de la química combinatòria ha crescut durant els darrers anys. Aquesta situació no és tampoc gaire diferent en el sector de la indústria farmacèutica, amb comptades excepcions, cosa que també és preocupant. I ho és perquè el desinterès per adaptar i posar al dia els equips químics d'I + D a l'estratègia combinatòria té altres significats, com ara la desmo-

tivació prèvia per modernitzar la investigació preclínica en el seu conjunt. No oblidem que hauria estat aquesta modernització la que hauria fet palesa la necessitat d'incorporar la tecnologia combinatòria al programa global de descobriment de fàrmacs. A parer nostre, en el tornar del segle ja no es tracta d'una política convenient, sinó realment peremptòria si es pretén la supervivència a mitjà termini. Falta veure què pot passar en altres camps, com ara el de la catàlisi i el dels nous materials, en què el nostre panorama és encara més erm, si bé en els països més desenvolupats també es va començar més tard a treballar-hi.

Per concloure, podem dir que la química combinatòria ha assolit una maduresa com a tecnologia i que les seves aplicacions al descobriment i optimització de fàrmacs potencials, i també de catalitzadors i de nous materials, justifiquen l'interès que ha desvetllat, desvetlla i desvetllarà entre els químics del tombant del segle.

Bibliografia seleccionada

1. Adreça útil d'Internet: www.combichem.net. A més, es poden consultar revistes especialitzades, com ara *J. Combinatorial Chemistry*, de l'American Chemical Society. D'altra part, s'ha constituït l'European Society of Combinatorial Sciences i la Unió Europea ha creat una Acció COST específica, la A16, dedicada a la química combinatòria.
2. BOHACEK, R. S.; MCMARTIN, C.; GUIDA, W. C. «The art and practice of structure-based drug design: a molecular modeling perspective». *Med. Res. Rev.*, núm. 16 (1996), p. 3.
3. GOLEBIEWSKI, A.; KLOPFENSTEIN, S. R.; PORTLOCK, D. E. «Lead compounds discovered from libraries». *Curr. Opinion Chem. Biol.*, núm. 5 (2001), p. 273-284.
4. GUILLIER, F.; ORAIN, D.; BRADLEY, M. «Linkers and cleavage strategies in solid-phase organic synthesis and combinatorial chemistry». *Chem. Rev.*, núm. 100 (2000), p. 2091.
5. LEHN, J. M. «Dynamic combinatorial chemistry and virtual combinatorial libraries». *Chem. Eur. J.*, núm. 5 (1999), p. 2455.
6. MACLEAN, D.; BALDWIN, J. J.; IVANOV, V. T.; CATO, I.; SHAW, A.; SCHNEIDER, P.; GORDON, E. M. «Glossary of terms used in combinatorial chemistry». *Pure Appl. Chem.*, núm. 70 (1999), p. 2349-2365.
7. REETZ, M. T. «Combinatorial and evolution-based methods in the creation of enantioselective catalysts». *Angew. Chem. Int. Ed.*, núm. 40 (2001), p. 284.
8. SCHREIBER, S. L. «Chemical genetics resulting from a passion for synthetic organic chemistry». *Bioorg. Med. Chem.*, núm. 6 (1998), p. 1127.
9. SENKAN, S. «Combinatorial heterogeneous catalysis—A new path in an old field». *Angew. Chem. Int. Ed.*, núm. 40 (2001), p. 312.

Autors

Isabel Masip és llicenciada en química per la Universitat de Barcelona (1996) i doctora en química per la mateixa Universitat (2002). Actualment treballa al Departament de Química Orgànica Biològica de l'Institut d'Investigacions Químiques i Ambientals de Barcelona en química combinatòria de molècules orgàniques d'interès en biomedicina.

Àngel Messeguer és llicenciat en química per la Universitat de Barcelona (1969) i doctor en Química per la mateixa Universitat (1974). Professor d'Investigació del CSIC. Cap del Grup de Química Bioorgànica del Departament de Química Orgànica Biològica de l'Institut d'Investigacions Químiques i Ambientals de Barcelona. Els seus interessos de recerca abasten la química combinatòria de molècules orgàniques d'interès en biomedicina, les aplicacions biomèdiques d'antioxidants i els mecanismes de toxicitat de xenobiòtics.

Agraïments

Volem fer constar la nostra gratitud a tots els integrants de la Unitat de Química Bioorgànica, i en particular al Dr. Jordi Bujons, a Marc Humet i a Núria Cortès, i així mateix als doctors Enrique Pérez-Payá (Universitat de València) i Antonio Ferrer-Montiel (Universitat Miguel Hernández) i als seus equips, per la tasca feta i els suggeriments, la confiança i el suport rebuts a l'hora d'embarcar-nos en l'aventura combinatòria i continuar mantenint el caliu inicial. Igualment agraïm els suport rebuts de la CICYT (Projecte SAF98-0059), del Programa FEDER (2FD1997-1760-CO3-03), de la Fundació Marató TV3 (Projecte 2013/97), de DiverDrugs SL i de Merck Farma y Química.