



Entrevista a Jesús Angulo Álvarez (Doctor del Instituto de Investigaciones Químicas)

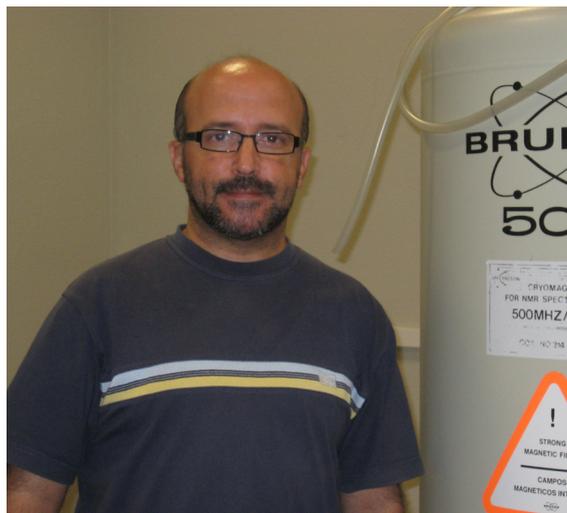
“La espectroscopía de RMN constituye la técnica física que mayor cantidad de información ha aportado en las últimas décadas al análisis estructural molecular”

Sevilla, 23/07/2010. Un artículo firmado por Jesús Angulo, Pedro M. Enríquez-Navas y Pedro M. Nieto, investigadores del IIQ, ha sido designado “Very Important Paper” por una revista de notable impacto científico como es *Chemistry: A European Journal*. El título completo del trabajo es “Ligand-Receptor Binding Affinities from Saturation Transfer Difference (STD) NMR Spectroscopy: The Binding Isotherm of STD Initial Growth Rates”. Dicha investigación pone de manifiesto, entre otros factores, la relevancia que ostentan las técnicas de espectroscopía de RMN para el avance de la química y la bioquímica.

¿Qué os motivó a iniciar esta investigación?

La motivación inicial fue la necesidad de disponer de una metodología basada en la espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN) apropiada para la medida de afinidades de moléculas orgánicas pequeñas (ligandos) por receptores biomacromoleculares, como las proteínas, cuando las interacciones puestas en juego implican bajas energías de asociación (interacciones débiles).

Estas interacciones pueden representar un papel muy importante en las primeras etapas del desarrollo de fármacos (cribado de ligandos), donde se identifican fragmentos moleculares pequeños que presentan afinidades normalmente débiles por los receptores-dianas objeto del estudio. La técnica en la que se basa la metodología propuesta en este trabajo (espectroscopía STD NMR) ha demostrado en los últimos diez años ser especialmente apropiada para la detección y caracterización estructural de interacciones débiles ligando-proteína,



Tras doctorarse en Ciencias Químicas y especializarse en técnicas de RMN, Jesús Angulo se incorporó al IIQ en 2006.

Perfil científico

Jesús Angulo es Doctor en Ciencias Químicas y trabaja en el Instituto de Investigaciones Químicas (IIQ). Realiza sus estudios en el Grupo de Carbohidratos, dentro del Departamento de Química Bioorgánica.

Licenciado en Ciencias Químicas por la Universidad de Sevilla, completó su tesis doctoral en el IIQ, bajo la dirección del Doctor Pedro M. Nieto, fundamentada en estudios estructurales y dinámicos de glicosaminoglicanos por espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN) y química computacional (mecánica y dinámica molecular). Entre 2003 y 2005, se especializó, en el laboratorio del Profesor Thomas Peters, en el Institut für Chemie de la Medizinische Universität en Lübeck (Alemania) en la aplicación de técnicas de RMN de observación de ligando (RMN de transferencia) al estudio de las interacciones ligando-proteína, con énfasis en enzimas glicosiltransferasas.

Desde 2006 trabaja en el IIQ en química estructural, dentro de las líneas centradas en la química orgánica biológica de glicosaminoglicanos, estudiando los aspectos estructurales y dinámicos de oligosacáridos polianiónicos, así como la aplicación de la RMN a la caracterización de interacciones ligando-proteína simples, mono y multivalentes, entre otros aspectos.

y es una técnica ampliamente utilizada tanto en laboratorios académicos como de la industria para las etapas de cribado de potenciales ligandos de dianas terapéuticas.

Sin embargo, desde sus primeras etapas se pusieron de manifiesto las dificultades que presentaba la utilización de dicha técnica para medir afinidades ligando-proteína con precisión.

¿Cuál es la hipótesis de partida de vuestro estudio?

Nuestra hipótesis de partida consistió en suponer que las desviaciones que se observaban en las medidas de afinidades estaban relacionadas con dos procesos de sobra conocidos en es-pectroscopía de RMN y en la termodinámica de las interacciones bimoleculares: la relajación de magnetizaciones en estados fuera del equilibrio y la reasociación del ligando en el sitio de reconocimiento de la proteína.

Considerando que la reasociación de un determinado ligando podría ocurrir tan rápido que no tuviese tiempo de retornar al estado de equilibrio inicial en presencia de un campo magnético, pensamos que los efectos de estos procesos se podrían cancelar si los experimentos se realizaran a distintos tiempos totales y se extrapolaran dichos resultados a tiempo cero (pendientes iniciales experimentales).

¿A qué conclusiones llega el artículo?

La conclusión principal del artículo es que una técnica de tan amplio uso en el campo de las interacciones ligando-proteína, como la espectroscopía STD NMR es perfectamente apropiada para la determinación precisa de afinidades (constantes de disociación) ligando-proteína en los casos de interacciones débiles, donde otros métodos físicos

pueden encontrar dificultades en cuanto al límite de detección. Eso sí, para evitar todas las posibles desviaciones que pueden afectar a la medida, es necesario seguir el protocolo propuesto de utilización de pendientes iniciales de crecimiento de las señales.

Por otro lado, el trabajo racionaliza todas las observaciones publicadas con anterioridad relacionadas con las desviaciones experimentales de las medidas, estableciendo, en casos donde no se siga el protocolo propuesto, que las medidas de afinidad por STD NMR suponen siempre la determinación, al menos, de una cota superior del valor termodinámico de la afinidad.

En cierto modo, este trabajo pone de manifiesto que la espectroscopía de RMN es una herramienta indispensable en el ámbito de la química y la bioquímica por la información que revela sobre las moléculas y sus interacciones. ¿En qué sentido son aplicables estas investigaciones para el desarrollo de agentes terapéuticos?

La espectroscopía de RMN, junto con la difracción de rayos-X de monocristal, se puede decir, sin temor a equivocarse, que constituyen las técnicas físicas que mayor cantidad de información han aportado en las últimas décadas al análisis estructural molecular, así como a la caracterización de interacciones moleculares, en el ámbito de la (bio)química estructural.

Las técnicas de RMN, entre las que se encuentra la STD NMR, presentan, además, la gran ventaja de poder realizarse en disolución, en estado líquido, lo que permite preparar las matrices de las muestras objeto de estudio en un contexto experimental de mayor similitud al de las condiciones fisiológicas, en el caso de estudios de sistemas de interés biológico.

La metodología que se propone en este trabajo está basada en una técnica (STD NMR) que ha demostrado su utilidad en la caracterización a nivel atómico de los elementos estructurales clave en el reconocimiento molecular de un determinado ligando (potencial fármaco) por

una determinada diana terapéutica (receptor biológico).

Con la metodología propuesta, dicha técnica puede proporcionar no sólo dicha información estructural, sino que simultáneamente, puede darnos la medida de la afinidad de dicha interacción de forma precisa. Las modificaciones estructurales de fármacos potenciales basadas en datos estructurales, como por ejemplo a partir de RMN, deben ser analizadas posteriormente en términos de afinidades, para demostrar las mejoras introducidas.

A grandes rasgos, ¿cuáles son los principales retos que se plantea la espectroscopía de RMN en el contexto de la biomedicina?

Uno reto remarkable consiste en la ejecución de experimentos de espectroscopía de RMN de alta resolución directamente en células vivas (o tejidos). Ya existen resultados prometedores en la literatura, que corroboran dicha posibilidad, si bien queda mucho camino por recorrer para poder estudiar con precisión interacciones biomoleculares por RMN en el interior de células vivas.

Precisamente, la técnica STD NMR es particularmente adecuada para estudios de interacciones con receptores transmembrana de interés farmacológico. En este campo se está evolucionando mucho en experimentos con proteínas de membrana por espectroscopía de RMN en estado sólido.

Finalmente, uno de los recurrentes problemas a resolver relativos a la espectroscopía de RMN en biomedicina es el referido a la sensibilidad, por lo que todos los estudios encaminados a mejoras

Composición actual del grupo de investigación de Carbohidratos



El Grupo de Carbohidratos se incorporó al Instituto de Investigaciones Químicas del cicCartuja a finales de 1996.

En sus orígenes, el Grupo de Carbohidratos perteneció al Instituto de Química Orgánica del CSIC en Madrid. Durante más de dos décadas, este equipo investigador atravesó por diversas etapas académicas e institucionales, hasta integrarse como grupo del Instituto de Investigaciones Químicas (IIQ) en el cicCartuja a finales de 1996.

Actualmente, los miembros del Grupo de Carbohidratos son los siguientes:

Personal de Plantilla:

- Dr. Pedro M. Nieto Mesa (Científico Titular del CSIC)
- Dr. Francisco Javier Rojo Marcos (Científico Titular del CSIC)
- Dr. José Luis de Paz Carrera (Científico Titular del CSIC)

- Dr. Juan Carlos Morales Sánchez (Científico Titular del CSIC)

Miembros Post-Doctorales:

- Dr. Jesús Angulo Álvarez
- Dr. Ricardo Lucas Rodríguez

Estudiantes de doctorado:

- Carlos Cuestas Ayllon
- Pedro Miguel Enríquez Navas
- María del Mar Kayser Gutiérrez
- Cinzia Guzzi
- Ainhoa Mascaraque González
- Juan Carlos Muñoz García
- Olivia Sánchez Maldonado
- Macarena Sánchez Navarro
- Renato Marcio Riberio Viana

Personal técnico de apoyo:

- Javier López Prados

Personal contratado con cargo a proyecto:

- Lara Valeria Antonini
- David Parras Guijarro
- Susana Maza Pérez
- Giuseppe Macchione

de ésta (hiperpolarización, etc...) están aportando resultados importantísimos que podrían

potenciar drásticamente las posibilidades de la RMN en contextos biomédicos. ●

Ficha del artículo

Título: "Ligand-Receptor Binding Affinities from Saturation Transfer Difference (STD) NMR Spectroscopy: The Binding Isotherm of STD Initial Growth Rates"

Autores: Jesús Angulo, Pedro M. Enríquez-Navas y Pedro M. Nieto.

Revista: *Chemistry. A European Journal*

Volumen: 16

Issue: 26

Páginas: 7.803 - 7.812

Fecha: 12 de julio de 2010

