

# Cribado mediante un ensayo bioquímico de librerías de compuestos para la identificación de inhibidores de la quinasa CDK8/CICLINA C

María Isabel Albarrán, Antonio Cebriá, Natasha Zarich, Oliver Renner, Ana Belén García, Sonsoles Rodríguez, Rosario Concepción Riesco, Ana Isabel Hernández, Virginia Rivero, Rosa María Álvarez, Manuel Urbano, Sonia Martínez, Joaquín Paston, Carmen Blanco-Aparicio

CNIO

I Congreso de Señalización Celular, SECUAH 2016.  
15-17 de marzo, 2016. Universidad de Alcalá. Alcalá de Henares, Madrid. España.

**Palabras clave:**

## Resumen

Actualmente las estrategias empleadas en la búsqueda de nuevas terapias antitumorales están orientadas y dirigidas hacia una diana concreta mediante la búsqueda de moléculas pequeñas que modulen dianas implicadas en rutas de señalización celular esenciales para la progresión tumoral.

El complejo CDK8/CYCLINAC es una quinasa perteneciente a la familia de las quinasas dependientes de ciclinas, que pertenece al grupo de quinasas que fosforilan el dominio C-terminal de la RNA polimerasa II regulando de este modo la transcripción. CDK8/CYCLINAC forma parte del complejo multi-proteico denominado "Mediator", dentro de este complejo junto con los componentes MED12 and MED13 forman el denominado dominio quinasa que acompleja la acción de factores de transcripción con la maquinaria molecular que lleva a cabo la transcripción

La desregulación de la vía Wnt/ $\beta$ -catenina desempeña un papel central en el cáncer de colon y CDK8 ha sido identificado como un oncogén transcripcional en este tipo de tumores, Estudios publicados indican que la sobreexpresión y actividad quinasa de CDK8 podrían ser el desencadenante de la la progresión y agresividad del cáncer colorectal y ser indicador de un mal pronóstico de la enfermedad. Por otra parte también se ha determinado que CDK8 se expresa de manera significativa en adenoma gástrico y su expresión es mayor en adenocarcinoma gástrico. Mediante microarrays se ha correlacionado la expresión CDK8 con baja supervivencia en cáncer de mama y de ovario.

Por todo ello, iniciamos un proyecto de desarrollo de fármacos para la identificación y optimización de inhibidores de CDK8/CICLINA C para su posible aplicación terapéutica en cáncer ya sea como agente único o en combinación con terapias existentes.

En nuestro proyecto para la búsqueda de nuevos agentes terapéuticos, desarrollamos y validamos un ensayo bioquímico de "Binding" usando la tecnología "Lanthascreen" para estudiar la actividad quinasa de CDK8/CICLINA C y usarlo para medir la inhibición de la enzima purificada. También se desarrolló un ensayo para evaluar la inhibición celular de CDK8 que mide la modulación de la actividad transcripcional de  $\beta$ -catenina en la línea HCT116 de cáncer de colon que sobreexpresa CDK8.

Tras la puesta a punto del ensayo bioquímico, realizamos una campaña de cribado de compuestos químicos, utilizando dos librerías diferentes. En primer lugar se hizo un escrutinio enfocado de 1090 compuestos seleccionados de la librería de 50000 compuestos del CNIO. Este escrutinio se realizó por duplicado a una concentración de 10  $\mu$ M, se estableció un punto de corte del 50% de inhibición y se identificaron 129 compuestos que se confirmaron en ensayos de dosis respuesta, de los cuales 40 compuestos presentaron una  $IC_{50}$  inferior a 0.5  $\mu$ M. Estas moléculas pertenecían a diferentes series químicas con y sin propiedad intelectual y por ello se seleccionaron 5 "hits" para hacer química y generar nuevas moléculas más potentes y con propiedad intelectual. Esta fase de generación de nuevos "hits" dio lugar a 8 series químicas con propiedad intelectual, que se caracterizaron a nivel de potencia, selectividad frente a otras quinasas (un panel de 24 representantes de las diferentes familias del quinoma) y estudios ADME *in vitro* como, solubilidad cinética, permeabilidad y estudios de inestabilidad microsómica. En base a todos estos criterios se seleccionó la serie química 5 con la cual en la actualidad estamos en una fase de "hit to lead". Se realizó un segundo escrutinio, esta vez con un objetivo de reposicionamiento y para ello se utilizó una librería de 1539 compuestos procedente de la Johns Hopkins University (JHU), que contiene fármacos ya aprobados en clínica con diferentes aplicaciones. La campana también se realizó a doble punto y 1  $\mu$ M, se estableció un punto de corte del 70% de inhibición y se seleccionaron 15 compuestos para los que se determinó su  $IC_{50}$  bioquímico y su  $EC_{50}$  en el ensayo celular, pero a pesar de ser potentes bioquímicamente no dieron actividad celular y por ello no se progresaron.

**Cita:** María Isabel Albarrán, Antonio Cebriá, Natasha Zarich, Oliver Renner, Ana Belén García, Sonsoles Rodríguez, Rosario Concepción Riesco, Ana Isabel Hernández, Virginia Rivero, Rosa María Álvarez, Manuel Urbano, Sonia Martínez, Joaquín Paston, Carmen Blanco-Aparicio (2016) Cribado mediante un ensayo bioquímico de librerías de compuestos para la identificación de inhibidores de la quinasa CDK8/CICLINA C. Panel. Actas del I Congreso de Señalización Celular, SECUAH 2016. 15-17 de marzo, 2016. Universidad de Alcalá. Alcalá de Henares, Madrid. España. Dianas 5 (1): e201603A1. ISSN 1886-8746 journal.dianas.e201603. URI <http://hdl.handle.net/10017/15181>

**Copyright:** © 2016 María Isabel Albarrán et al. Este es un artículo open-access distribuido bajo los términos de una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional. <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>