



MÉTODOS ALTERNATIVOS EN TOXICOLOGÍA PREDICTIVA: **COMPUTACIÓN E INTELIGENCIA ARTIFICIAL** PARA EL CUMPLIMIENTO DE LAS NORMATIVAS REGULADORAS EUROPEAS SOBRE COMPUESTOS QUÍMICOS, EN ESPECIAL EN EL ÁMBITO DEL DESARROLLO FARMACÉUTICO

Hasta hace bien poco, el potencial tóxico en el ser humano y el medio ambiente de la mayor parte de las sustancias químicas industriales se evaluaba mediante el uso de modelos animales de laboratorio. Sólo en la Unión Europea se estima que más de 10 millones de animales vertebrados se sacrifican anualmente, y además esta cifra está creciendo enormemente debido a REACH, un reglamento europeo que obliga a los fabricantes e importadores de productos químicos de la UE a presentar un expediente de registro a la Agencia Europea de Productos Químicos (ECHA) para garantizar su seguridad. Por todo ello, para evitar la experimentación con animales y reducir los costes, la ECHA obliga a las empresas a utilizar métodos alternativos, limitando el uso de animales solo como último recurso.



Dr. Rafael Gozalbes Botella, CEO de ProtoQSAR

EXISTEN DOS TIPOS de métodos alternativos para la sustitución de pruebas con animales vivos, como las técnicas *in vitro* que usan porciones de tejidos, órganos perfundidos y cultivos celulares o subcelulares, o el uso de organismos no animales como bacterias, algas u hongos; y los métodos *in silico*, que permiten la simulación de mecanismos de acción y la predicción de propiedades de los compuestos, como sus valores de toxicidad humana o ambiental utilizando modelos computacionales, basados en técnicas de inteligencia artificial y aprendizaje automatizado.

Estos métodos computacionales tienen grandes ventajas frente a los tradicionales, a saber:

1. **Rapidez:** los modelos computacionales se caracterizan por su aplicabilidad fácil e inmediata, de modo que se pueden evaluar de forma muy rápida miles o incluso millones de estructuras químicas, algo imposible de realizar experimentalmente.
2. **Optimización:** la evaluación predictiva puede hacerse sobre compuestos "virtuales", antes de

su síntesis, y por lo tanto permiten priorizar solamente aquellos con una bioactividad deseada y/o un bajo perfil toxicológico.

3. **Economía:** las simulaciones computacionales suponen un ahorro enorme de tiempo, recursos y dinero con respecto a estudios *in vivo* o *in vitro*.
4. **Validez regulatoria:** los métodos computacionales son aceptados e incluso incentivados por muchas normativas internacionales, y en particular de la Unión Europea (como la anteriormente mencionada REACH; la regulación de impurezas ICH-M7; o la de productos biocidas, BPR).

Entre las aplicaciones computacionales más eficaces para predecir toxicidad destacan los llamados **modelos QSAR** (del inglés *Quantitative Structure-Activity Relationships*), que **consisten en el desarrollo de algoritmos capaces de establecer una relación estadística entre los datos toxicológicos cuantificables y la estructura química de una serie de moléculas** -caracterizadas previamente por una serie de descriptores

moleculares numéricos-. Los modelos QSAR se utilizan en campos muy diversos, y por ejemplo forman parte del protocolo habitual tanto para el descubrimiento de fármacos (o sea, de compuestos bioactivos con efectos terapéuticos) como para su posterior optimización (y muy especialmente para predicción de parámetros farmacocinéticos que pueden influir en la biodisponibilidad de los compuestos, para intentar mejorar dichas características).

Gracias a las herramientas computacionales, **hoy es posible predecir toxicidad sistémica en humanos** (p. ej. carcinogénesis, mutagénesis, genotoxicidad, toxicidad reproductiva, etc.), **toxicidad en humanos a nivel local** (irritación cutánea y ocular, fototoxicidad, etc.) o **ecotoxicidad** (efectos tóxicos en plantas, organismos acuáticos y terrestres -invertebrados y vertebrados- o pájaros). No obstante, la mayor parte de programas actualmente disponibles presentan algunos inconvenientes muy significativos:

1. El número de parámetros que se pueden evaluar con los programas actuales es relativamente bajo. Así, por ejemplo, los solicitantes de registro para el cumplimiento de REACH no encuentran herramientas simples que les permitan evaluar los de alrededor de cincuenta parámetros fisicoquímicos, toxicológicos y ecotoxicológicos requeridos.
2. Algunos de los programas se han financiado gracias a programas públicos que hace ya tiempo que concluyeron, y en la actualidad no son accesibles, no hay actualizaciones o presentan un servicio de mantenimiento mínimo.
3. Casi todos estos programas son particularmente difíciles de entender e interpretar para usuarios que no están familiarizados con los modelos computacionales, y además no proporcionan un grado de certeza o fiabilidad de sus predicciones.
4. Finalmente, los programas disponibles no proporcionan la información necesaria para completar los expedientes del registro REACH (los llamados *QSAR Model Reporting Format* y *QSAR Prediction Reporting Format*, QMRF y QPRF respectivamente).

Con el objetivo de proveer una herramienta novedosa capaz de superar los inconvenientes mencionados, en ProtoQSAR hemos diseñado una plataforma tecnológica totalmente innovadora, ProtoPRED.

Esta plataforma permite predecir un gran número de propiedades de compuestos químicos a partir de su estructura, incluyendo propiedades físico-químicas,

biomédicas, terapéuticas, toxicológicas y ecotoxicológicas. ProtoPRED incluye un conjunto de modelos QSAR desarrollados por nuestros expertos utilizando las últimas técnicas de aprendizaje automático (*machine learning*) y otras herramientas de inteligencia artificial. Estos modelos QSAR han sido ampliamente validados para garantizar su aceptación a nivel regulatorio y cubren la mayor parte de los parámetros solicitados por el reglamento REACH y otros relevantes en el desarrollo de fármacos, como la guía ICH-M7 sobre evaluación de mutagenicidad en impurezas farmacéuticas).

ProtoPRED se caracteriza por su alta eficiencia predictiva, gracias entre otras cosas a la mayor disponibilidad de los datos necesarios para generar los modelos, y al desarrollo de nuevos métodos de aprendizaje automático y de inteligencia artificial. Un aspecto muy importante es su simplicidad: no se requieren conocimientos particulares sobre técnicas computacionales, el usuario solo necesita introducir la sustancia química a estudiar (ya sea utilizando códigos de identificación estándar como el “número CAS” o dibujando la estructura química), y en un período de tiempo muy corto obtiene los valores predichos para los parámetros solicitados. En el caso de REACH, ProtoPRED proporciona automáticamente los documentos estándar necesarios para el registro (QMRF y QPRF).

Además de lo anterior, en ProtoQSAR trabajamos para que ProtoPRED incluya pronto algunas opciones innovadoras que no aparecen en ninguna de las herramientas existentes, como:

1. Posibilidad de realizar predicciones de los parámetros toxicológicos de los nanomateriales (NMs).
2. Opción alternativa de generación de nuevas estructuras virtuales, que puede ser de extraordinaria utilidad para el usuario, ya que le permite evaluar muy fácilmente las propiedades de compuestos alternativos a los ya conocidos.

La plataforma ProtoPRED incluye diferentes módulos, en función de los parámetros que se desee evaluar (propiedades fisicoquímicas, toxicológicas, ecotoxicológicas, ADME, etc.).

El primero de dichos módulos es ProtoICH, que permite realizar predicciones de mutagenicidad (capacidad de alterar permanentemente el material genético celular) con validez regulatoria. Se trata pues de una herramienta computacional especialmente útil para evaluar la toxicidad de productos químicos y facilitar su proceso de registro obligatorio ante las autoridades, y en particular en el caso de las impurezas que se pueden generar

durante el proceso de síntesis de un fármaco, de acuerdo con la guía ICH-M7. ProtoICH ya se ha lanzado y está a disposición de nuestros clientes.

La mutagenicidad se suele estimar de forma estandarizada con animales de laboratorio o mediante la prueba de Ames, un test *in vitro* que utiliza cepas modificadas genéticamente de la bacteria *Salmonella typhimurium*. La posibilidad de hacer esta evaluación mediante una simulación computacional aporta rapidez y economía de costes. Además, se ha verificado la capacidad predictiva de ProtoICH frente a cientos de compuestos, y ha demostrado un grado de acierto superior al 85%, es decir un valor similar al que arroja la propia prueba de Ames. Se trata de la mayor capacidad predictiva descrita hasta ahora. Finalmente cabe añadir su carácter sostenible, al mejorar la seguridad de las sustancias químicas en cuanto a toxicidad, reducir el uso de cepas bacterianas en los procesos de I+D y permitir una menor experimentación con animales.

ProtoICH puede utilizarse para analizar de manera fiable prácticamente cualquier compuesto químico, y permite obtener automáticamente los informes requeridos a nivel regulatorio. Esta plataforma integra modelos QSAR y sistemas expertos basados en reglas, que se han construido usando el conjunto de datos fiables más grande utilizado hasta el momento para la predicción de mutagenicidad. Esto permite a los usuarios analizar sus moléculas de interés por los dos métodos requeridos por la guía ICH-M7 (que rige la evaluación de mutagénesis en impurezas de productos farmacéuticos) introduciendo simplemente su estructura química (por ejemplo, dibujando la molécula) o algún identificador estándar como el número CAS.

La predicción de no-mutagenicidad a partir de estas dos metodologías complementarias (QSAR y detección de alertas según reglas) es suficiente para concluir que



la impureza no supone una preocupación mutagénica y, por lo tanto, no se necesita de ninguna prueba adicional.

VISIÓN DE FUTURO

Los avances en aprendizaje automatizado e inteligencia artificial están abriendo nuevas vías en los procesos de desarrollo y optimización de nuevos compuestos químicos, de origen natural o sintético, que se pretenden más eficaces y menos tóxicos para el ser humano y el medio ambiente. El incremento del número de compuestos químicos evaluados computacionalmente previo a su registro y comercialización facilitará la sustitución de los más peligrosos por alternativas inocuas o menos tóxicas, contribuyendo así a mejorar la salud humana y a proteger el medio ambiente. Por poner un ejemplo, gracias a estos métodos se puede reducir significativamente el uso y el riesgo de pesticidas químicos (que potencialmente pueden actuar como disruptores endocrinos), así como el uso de fertilizantes y antibióticos, que es parte de la estrategia europea conocida como **"Pacto Verde de la UE"** (Green Deal).

Además, la UE promueve tecnologías digitales consideradas como un habilitador fundamental para lograr los objetivos de sostenibilidad en muchos sectores diferentes. Desde ProtoQSAR estamos implicados con estos objetivos, y queremos contribuir con nuestros desarrollos tecnológicos para facilitar el uso de productos más sostenibles y la creación de nuevas oportunidades económicas abiertas a todos los Ecosistemas Industriales Europeos ●