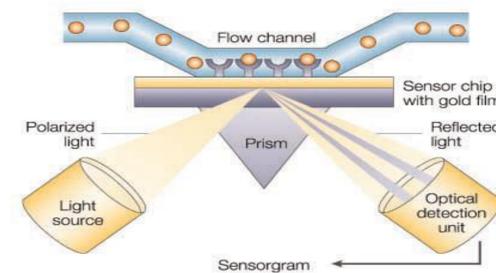


Introducción

Los biosensores con mayor aplicación en el descubrimiento de fármacos están basados en un fenómeno óptico denominado **Resonancia de Plasmón de Superficie (SPR)**. Estos dispositivos nos permiten llevar a cabo estudios cualitativos y cuantitativos sobre la **interacción entre biomoléculas**, como pueden ser un **fármaco y su receptor**. Actualmente, el estudio de estas interacciones biomoleculares presenta una enorme aplicación en el descubrimiento de fármacos.



Objetivos

1. Describir el **funcionamiento** de los biosensores basados en SPR.
2. Estudios de la **interacción fármaco-receptor** empleando biosensores.
3. **Ventajas** del empleo de esta técnica.
4. **Aplicaciones** de biosensores en el descubrimiento de fármacos.

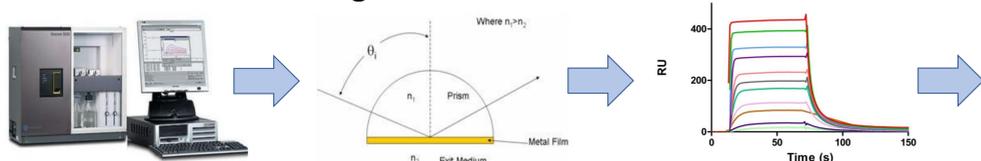
Metodología

Búsqueda y revisión bibliográfica de publicaciones científicas relacionadas con los biosensores basados en SPR y sus aplicaciones en el descubrimiento de fármacos (PubMed y Google Scholar).

Descripción de la técnica

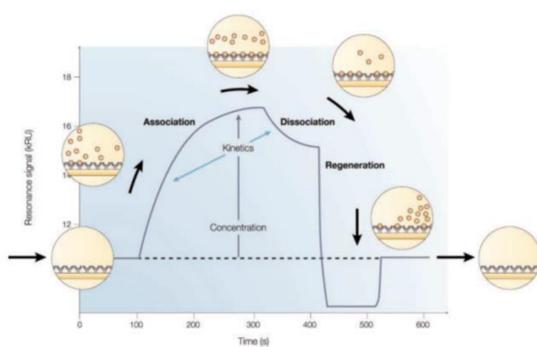
Procedimiento:

- I. Preparación de las **disoluciones** a utilizar.
- II. Insertar **biochip** en el biosensor.
- III. Puesta en marcha del ensayo (**SPR**): inmovilización del fármaco o receptor y fluir fármaco o receptor.
- IV. Obtención del **Sensograma**.



- ✓ Análisis en tiempo real de la interacción fármaco-receptor.
- ✓ Equilibrio o saturación del complejo formado.
- ✓ Unión fármaco-receptor reversible o irreversible.
- ✓ Estabilidad cinética del complejo formado.
- ✓ Análisis cuantitativo de la interacción (constantes de equilibrio, constantes de velocidad)
- ✓ Estequiometría de unión.
- ✓ Aspectos termodinámicos.
- ✓ Información del proceso y/o modelo biológico¹.

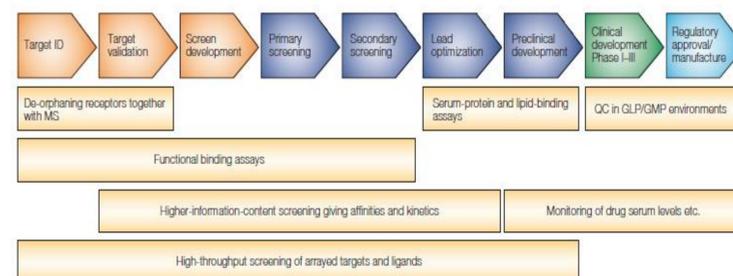
Estudios de unión fármaco-receptor



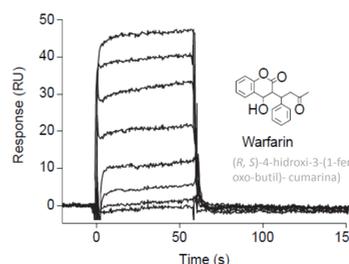
- Fase 1) Asociación:** unión fármaco-receptor. Aumento en la respuesta.
Fase 2) Equilibrio: receptores están ocupados. Meseta.
Fase 3) Disociación: receptores se van liberando. Disminución en la respuesta.
Fase 4) Regeneración de los receptores inmovilizados.

Aplicaciones

Las principales aplicaciones de los biosensores SPR en el análisis farmacéutico son:

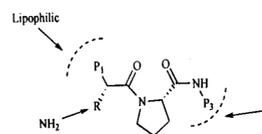


Ejemplo 1: Interacción del fármaco **Warfarina** con la Albúmina sérica humana⁴.



- HSA inmovilizada sobre el chip y se fluye Warfarina.
- Concentraciones de Warfarina: 100, 50, 25, 12.5, 6.3, 3.1, 1.1 y 0 μM .
- Flujo: 100 $\mu\text{L}/\text{min}$.
- Tampón de trabajo: 20 mM Na_2HPO_4 , 150 mM NaCl, 3% DMSO, pH 7.4 y a 25 $^\circ\text{C}$.
- K_D 17 μM , lo que corresponde a una unión del 97.5 %.

Ejemplo 2: Inhibidores de **Trombina** análogos a la Prolina^{5,6}.

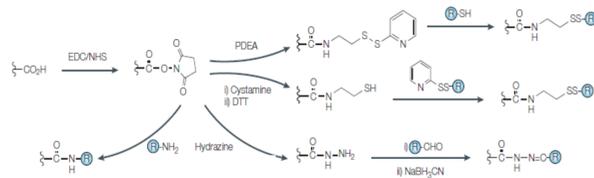


- Trombina inmovilizada; se fluyen 36 análogos a prolina.
- Análogos con amino en P1 y/o grupos lipófilos en P1 y P3: aumento de afinidad.

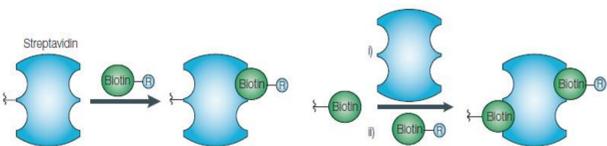
Métodos de inmovilización

En el desarrollo de ensayos en biosensores SPR, es necesario un paso previo de inmovilización del fármaco o receptor sobre la película de oro:

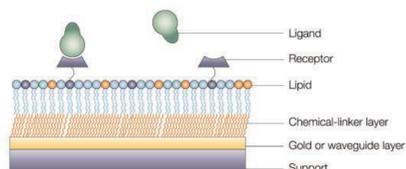
A) Inmovilización covalente. Acoplamiento con Aldehído².



B) Inmovilización por captura. Streptavidina-Biotina².



C) Inmovilización sobre membrana. Adsorción de fosfolípidos sobre la superficie del chip¹.



Ventajas

- ✓ Estudio de las interacciones biomoleculares a tiempo real, sin necesidad de identificar las moléculas con marcadores.
- ✓ Obtención del producto inmovilizado en el biosensor (Síntesis en fase sólida)³.
- ✓ Precisa de muy poca cantidad de muestra y no se producen pérdidas de producto.
- ✓ Versatilidad de estudios, se puede trabajar con cualquier tipo de biomolécula.

Bibliografía

1. Huber, W. Mueller, F. *Biomolecular interaction analysis in drug discovery using surface plasmon resonance technology*. *Curr Pharm Des.* **2006**; 12(31):3999-4021.
2. Cooper, MA. *Optical biosensors in drug discovery*. *Nat Rev Drug Discov.* **2002**; 1(7):515-28.
3. Zeidan, E. Kopley, CL. Sayes, C. Sandros, MG. *Surface plasmon resonance: a label-free tool for cellular analysis*. *Nanomedicine.* **2015**; 10(11):1833-46.
4. Frostell-Karlsson, A. Remaeus, A. Roos, H. Andersson, K. Borg, P. Hämäläinen, M. et al. *Biosensor analysis of the interaction between immobilized human serum albumin and drug compounds for prediction of human serum albumin binding levels*. *J Med Chem.* **2000**; 43(10):1986-92.
5. Danielson, UH. *Fragment library screening and lead characterization using SPR biosensors*. *Curr Top Med Chem.* **2009**; 9(18):1725-35.
6. Nilsson, M. Hämäläinen, M. Ivarsson, M. Gottfries, J. Xue, Y. Hansson, S. et al. *Compounds Binding to the S2-S3 Pockets of Thrombin*. *J Med Chem.* **2009**; 52(9):2708-15.

Conclusiones

- ✓ Se trata de tecnologías muy recientes, pero de gran utilidad por su variedad de aplicaciones¹.
- ✓ Debido a la breve existencia de estos sistemas, se precisa su estudio en situaciones en las que aún no han sido probados.
- ✓ Necesidad de optimización de las técnicas de inmovilización y purificación de las proteínas.