



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

TRABAJO FIN DE GRADO

**TÍTULO: Fármacos multidiana en el
campo de las enfermedades infecciosas.**

Autor: Alejandro Barroso de la Fuente

Tutor: Giorgio Giorgi

Convocatoria: Junio 2018

ÍNDICE

1	RESUMEN	2
2	INTRODUCCIÓN	2
2.1	Fármacos multidiana	2
2.2	Infección concomitante por el Virus del Herpes Simple tipo 2 (VHS-2) y el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH)	3
2.3	Resistencias microbianas a los antibióticos	5
3	OBJETIVOS	6
4	MATERIAL Y MÉTODOS	6
5	RESULTADOS Y DISCUSIONES	7
5.1	Asociación entre la infección por VHS-2 y aumento del riesgo de infección por VIH	7
5.2	Fármaco multidiana frente al VIH y VHS-2	9
5.3	Tuberculosis multirresistente	11
5.4	Fármaco multidiana frente a la tuberculosis multirresistente	13
6	CONCLUSIONES	16
7	BIBLIOGRAFÍA	17

1 RESUMEN

En este trabajo se realizará una revisión bibliográfica sobre potenciales terapias basadas en fármacos multidiana en el campo de las enfermedades infecciosas. Se abordarán los principales inconvenientes y limitaciones de las terapias actuales con fármacos monodiana en este tipo de enfermedades, comparadas con las posibilidades de un tratamiento con fármacos multidiana. Se explicará el diseño, investigación y aplicaciones potenciales de dos moléculas multidiana: el 6-fosfonil-etoxi-metoxi-2,4-diaminopirimidina (PMEO-DAPym) como tratamiento de acción dual contra el VIH y el VHS-2, y el SQ109 como tratamiento contra cepas multirresistentes de tuberculosis y que también muestra actividad contra otras bacterias, hongos y un parásito de la malaria.

2 INTRODUCCIÓN

2.1 Fármacos multidiana

En la historia de la farmacología siempre se ha concebido el fármaco ideal como una sustancia, de origen natural o sintético, con la capacidad de reconocer a una única entidad biológica (denominada diana o receptor) e interactuar con la misma, generando un efecto beneficioso en el tratamiento o diagnóstico de una enfermedad. La comunidad científica siempre ha considerado como requisito indispensable para un fármaco ideal su elevada selectividad por esa misma diana, que evite la interacción del fármaco con otros objetivos erróneos que conduzcan a efectos no deseados en el organismo. Sobre este razonamiento, el concepto de fármacos que puedan actuar sobre múltiples dianas se ha entendido durante mucho tiempo como algo indeseable asociado intrínsecamente a efectos secundarios adversos.

En los últimos años, sin embargo, la proliferación de enfermedades complejas multicausales, especialmente las de carácter crónico, han demostrado la ineffectividad de los tratamientos convencionales con fármacos de objetivo único. En pacientes que presentan este tipo de enfermedades, la administración conjunta de diversos tipos de fármacos ha sido lo más efectivo y pautado; esto se conoce con el nombre de tratamientos polifarmacológicos o terapias de combinación. Este tipo de tratamientos, no obstante, presenta serias limitaciones, siendo la principal de ellas el peligro de interacción entre los propios fármacos, lo que agrava los síntomas no deseados o limita la efectividad de los

mismos, lo que en ocasiones conduce irremediablemente al fracaso terapéutico. Es en este contexto cuando surge el concepto de fármacos multidiana como un nuevo objetivo en el desarrollo de nuevos medicamentos. De hecho, a finales del siglo XX ya existían evidencias de que muchos de los fármacos monodiana convencionales en realidad actúan por medio de múltiples mecanismos. En todos los casos el descubrimiento de estos mecanismos fue fortuito y retrospectivo, no siendo nunca premeditado en el diseño del fármaco. Un ejemplo es el imatinib, medicamento que se diseñó inicialmente como un inhibidor selectivo de la proteína de fusión BCR-Abl. Posteriormente, se demostró que el imatinib también inhibía la C-Abl quinasa no oncogénica en células normales. Se informó que esta actividad adicional era relevante para la eficacia del imatinib contra la leucemia mieloide crónica, y que el perfil polifarmacológico de la sustancia era la base de su actividad terapéutica (1).

A partir de estas evidencias se comenzó a profundizar en las posibilidades terapéuticas de diseñar nuevos fármacos que actuaran de forma premeditada sobre varios objetivos terapéuticos, los denominados DMLs (Designed Multiple Ligands) o fármacos multidiana. Desde entonces, los campos de investigación de descubrimiento de fármacos de múltiples objetivos han crecido a un ritmo notable, ofreciendo nuevos paradigmas con el potencial de superar algunas de las principales limitaciones de las estrategias clásicas de «una diana, un fármaco». Las principales aplicaciones potenciales de este tipo de fármacos se han focalizado hacia enfermedades complejas multicausales como la enfermedad del Alzheimer o determinados tipos de cáncer (2). En estos últimos años han surgido diversos grupos de investigación y múltiples publicaciones respecto al tratamiento de estas enfermedades mediante fármacos multidiana. Sin embargo, existen otros campos de la medicina donde se ha propuesto que los fármacos multidiana podrían tener una relevancia clínica decisiva: las enfermedades infecciosas. En este estudio se abordará el desarrollo de fármacos multidiana y su aplicación en algunas enfermedades infecciosas de especial relevancia clínica, descritas a continuación.

2.2 Infección concomitante por el Virus del Herpes Simple tipo 2 (VHS-2) y el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH)

El VIH pertenece a la familia de los retrovirus, los cuales son ARN virus, llamados así por poseer una enzima denominada transcriptasa inversa que es básica para completar el ciclo vital de todos los miembros de esta familia al crear ADN del ARN viral, el cual se integra en el genoma de la célula huésped, donde se dirige la maquinaria celular hacia la

producción de nuevos viriones. El VIH es capaz de infectar diferentes células del cuerpo humano. Sus blancos principales son el linfocito T CD4+ y los macrófagos, aunque es capaz de infectar otros linfocitos, células de sostén (glía) del sistema nervioso central y neuronas, células enterocromafines del intestino y células dendríticas incluyendo las células de Langerhans, así como precursores de médula ósea. El proceso patogénico se caracteriza por la destrucción de linfocitos CD4+ (efecto citopático). Esta destrucción celular es compensada durante varios años, hasta que las reservas corporales se agotan, lo que desemboca en una depleción de estos linfocitos que son las células coordinadoras de la respuesta inmune, razón por la cual se produce una inmunodeficiencia adquirida (3).

El VHS-2, virus de la familia herpesviridae, subfamilia alphaherpesvirinae, es un virus de doble cadena de ADN sin intermediario de ARN. La infección por el VHS-2 se produce por contacto directo con las secreciones genitales infectadas o lesiones mediante la actividad sexual. De esta manera, el virus penetra a través de la superficie de las mucosas o de la piel escoriada, llevando a cabo una replicación viral en el sitio de la infección (4). Inicialmente el virus produce una infección primaria que suele ser leve o asintomática, durante la cual viaja a través de los axones neuronales de nervios periféricos cercanos al lugar de la infección hasta llegar al sistema nervioso central. Posteriormente el VHS-2 pasa a una forma latente, durante la cual restringe la expresión de su genoma viral, pasando desapercibido para el sistema inmune (5). En algunas ocasiones la infección primaria puede ser más grave, produciendo ampollas en la zona genital y síntomas centrales como disminución del apetito y fiebre. Cuando se produce una reactivación, el virus puede viajar de forma anterógrada hasta la periferia dando lugar a lesiones recurrentes. La curación completa de las lesiones puede durar varias semanas (6).

Es muy común que la infección por VIH curse con otros patógenos en el organismo, uno de los más comunes (si no el más común) es el VHS-2. Existen evidencias de que la infección por VHS-2 facilita el riesgo de adquisición del VIH y que puede empeorar el curso de la enfermedad (7). La coinfección resultante está apoyada por un círculo vicioso de facilitaciones mutuas entre ambos virus, como por ejemplo, la evidencia in-vitro de que el VHS-2 induce la proliferación de macrófagos, células donde el VIH puede replicarse (8). Se ha observado la presencia de VIH en macrófagos residentes en la mucosa genital en individuos infectados con VHS-2 (5), evidenciando que ambos

patógenos pueden sobrevivir en el mismo entorno e incluso cooperar entre ellos (7) (8) (9).

2.3 Resistencias microbianas a los antibióticos

Otro de los aspectos en el campo de las enfermedades infecciosas donde los fármacos multidiana podrían tener aplicaciones potenciales es la lucha contra las resistencias bacterianas a los antibióticos, que se ha convertido en uno de los aspectos más preocupantes para la salud pública en los últimos años. Se ha llegado a la conclusión de que las bacterias MR (multirresistentes) tienen el potencial para anular la eficacia de todos los tratamientos antibióticos en los siguientes 15-20 años (10), aumentando así la morbilidad y mortalidad de muchos tipos de enfermedades infecciosas que actualmente son controlables.

Especialmente preocupante para la comunidad médica es el caso de *Mycobacterium tuberculosis*, patógeno causal de la tuberculosis. Tras décadas en que la enfermedad era completamente curable en la práctica totalidad de los casos, la aparición de cepas resistentes la han convertido nuevamente en un reto para la salud pública. La situación actual de la tuberculosis MR (aquella que es resistente, al menos, a rifampicina e isoniacida) en el mundo es muy preocupante y se estima que el 3,9% de los nuevos casos diagnosticados padecen cepas MR, cifra que se eleva hasta el 21% en los enfermos previamente tratados. De los 10,6 millones de casos estimados de tuberculosis en el año 2015, alrededor de 580.000 podrían estar afectados con cepas resistentes, de los que pudieron morir alrededor de 250.000. Sólo se consiguió curar al 10% de los pacientes con tuberculosis MR, respuesta que resulta del todo ineficaz para tratar una epidemia (11).

Se ha evidenciado que los mecanismos de resistencia se desarrollan con mayor facilidad en tratamientos prolongados con un solo tipo de antibiótico. Al tratarse de fármacos dirigidos contra una sola diana la bacteria puede focalizar sus mecanismos de resistencia en anular la interacción del antibiótico, perdiendo su eficacia terapéutica (12). Para evitar el rápido desarrollo de resistencia se han empleado terapias de combinación, utilizando diferentes antibióticos que ataquen diferentes objetivos bacterianos, de forma que sea muy difícil que la bacteria llegue a desarrollar resistencia a todos los antibióticos. Estas terapias presentan problemas de interacción entre fármacos, así como la acumulación de reacciones adversas.

Todo ello ha motivado la investigación de moléculas con capacidad de atacar a un mismo microorganismo por diferentes vías, «fármacos resistentes a la resistencia» (12). El objetivo del diseño del fármaco multidiana es atacar al patógeno por varios puntos, de forma que a la bacteria le resulte imposible desarrollar resistencia contra todos los mecanismos del fármaco. El futuro de los antibióticos podría pasar por el diseño multidiana.

3 OBJETIVOS

- Analizar la asociación entre padecer VHS-2 y el aumento de riesgo de infección por VIH, así como los tratamientos convencionales monodiana para ambos tipos de enfermedad.
- Recopilar información sobre posibles tratamientos multidiana para tratar infecciones concomitantes del VHS-2 + VIH.
- Analizar el impacto de la resistencia bacteriana a los antibióticos en la enfermedad de la tuberculosis.
- Realizar una búsqueda bibliográfica sobre el potencial de tratamientos multidiana como estrategia para combatir el desarrollo de resistencias microbianas en *Mycobacterium tuberculosis*.

4 MATERIAL Y MÉTODOS

Se ha realizado una revisión bibliográfica en busca de información referente a fármacos multidiana en el campo de las enfermedades infecciosas producidas por VIH, VHS-2 y *Mycobacterium tuberculosis*, así como información sobre dichas enfermedades y sus tratamientos convencionales.

Se han empleado las siguientes bases de datos: PubMed, Bucea, Scielo, Medes y Google Academics. Las palabras claves utilizadas en la búsqueda han sido: “multitarget drugs” (empleando las comillas para realizar una búsqueda de nombre completo), multiligands, VIH, VSH-2, tuberculosis, “multitarget drugs infection diseases”, “antibiotic resistance”. Los criterios de inclusión fueron: artículos en español o inglés y artículos con texto completo disponibles gratuitamente (“free full text”).

5 RESULTADOS Y DISCUSIONES

5.1 Asociación entre la infección por VHS-2 y aumento del riesgo de infección por VIH

Tras aplicar la metodología de búsqueda se obtuvieron 10 artículos científicos referentes a la asociación entre infecciones por VIH y VHS-2.

La revisión de dichos estudios evidencia que los pacientes infectados con VHS-2 tienen mayor susceptibilidad frente a la infección por VIH. A partir de 1988 se comenzó a estudiar la prevalencia de la infección por VIH entre hombres homosexuales, reportándose ya entonces casos de infecciones concomitantes entre el VIH y el VHS-2 (13) (14). La prevalencia de infecciones por VIH entre pacientes portadores o infectados por VHS-2 es muy alta. En el África subsahariana, la zona del planeta con mayor prevalencia de VIH, entre el 50-90% de los infectados por VIH padecen también de infección por VHS-2 (15). Se ha comprobado que en pacientes infectados con ambos virus se encuentran mayores niveles de VIH en plasma y en las secreciones vaginales (15). Uno de los principales mecanismos de cooperación entre el VHS-2 y el VIH consiste en la inducción de producción de citoquinas por parte de células dendríticas infectadas por el VHS-2 (16). Estas citoquinas facilitan la replicación del VIH dentro de las células infectadas, facilitando su patogenicidad (16). Del mismo modo, la depleción de linfocitos T CD4+ por parte del VIH induce la reactivación del VHS-2 en estado latente, aumentando la gravedad de los síntomas de los brotes y su facilidad de aparición (15) (17). El VHS-2 interfiere con el sistema inmune por otros mecanismos que facilitan la coinfección por otros tipos de patógenos, entre los que se encuentran: supresión de la respuesta antiviral mediada por interferón, inhibición de los mecanismos de apoptosis en células infectadas (principalmente por supresión del sistema Fas/FasL), bloqueo de la formación de complemento y el bloqueo de la presentación de antígeno por parte de las CDs a las células NK (5).

El tratamiento convencional en personas infectadas con VIH y VHS-2 consiste en el empleo de una terapia antiretroviral combinada para actuar contra ambos patógenos. En España, el tratamiento del VIH suele consistir en la combinación de un inhibidor de la proteasa con dos inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósidos/nucleótidos (18). Un ejemplo sería:

Terapia anti-VIH	
Mecanismo de acción	Fármaco
Inhibidor de la proteasa	Ritonavir
Inhibidor de transcriptasa análogo nucleótido	Tenofovir
Inhibidor de transcriptasa análogo nucleósido	Emtricitabina

Hay que señalar que los efectos secundarios de estos antirretrovirales pueden ser muy severos en algunas personas. Entre las reacciones adversas más frecuentes se encuentran diversas manifestaciones clínicas derivadas del daño mitocondrial producido por los inhibidores de la transcriptasa inversa, tales como pancreatitis, miopatía, mielotoxicidad, etc (19). Por su parte, los inhibidores de la proteasa alteran el metabolismo lipídico y pueden producir lipodistrofia e intolerancia a los hidratos de carbono (19).

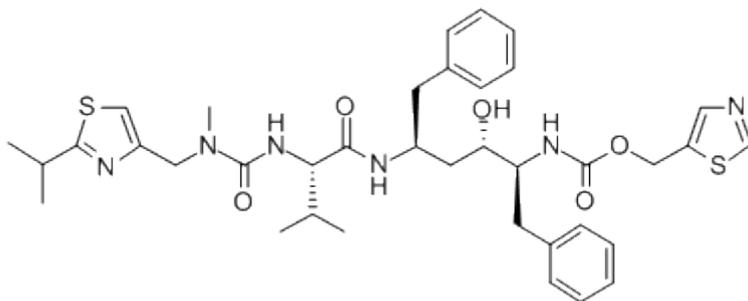


Ilustración 1: Ritonavir

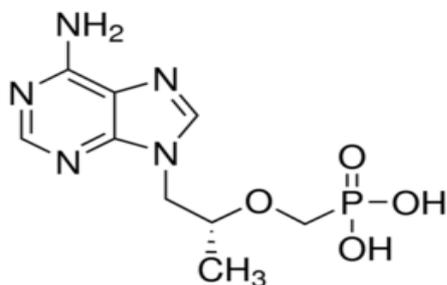


Ilustración 2: Tenofovir.

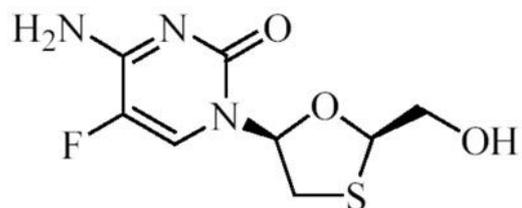


Ilustración 3: Emtricitabina.

En el caso del VHS-2 el tratamiento de elección es el Aciclovir, un análogo de guanina. Es un profármaco que se activa por una quinasa viral hasta el análogo trifosfato, e inhibe de forma competitiva la polimerasa vírica, impidiendo la replicación del virus. Los efectos secundarios suelen ser leves e incluyen náuseas, vómitos, diarrea y/o cefalea (20).

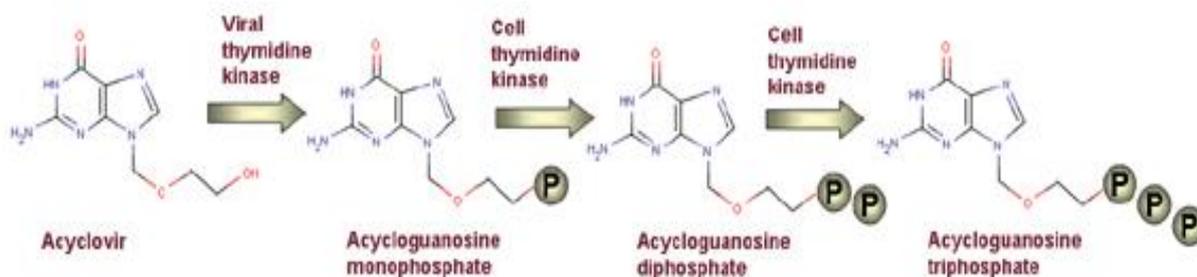


Ilustración 4: Aciclovir. Mecanismo de acción.

En ambos casos nunca se consigue la eliminación completa del virus, sino que se inhibe la replicación y propagación del mismo por el organismo, impidiendo la progresión de la enfermedad (18) (20).

5.2 Fármaco multidiana frente al VIH y VHS-2

Tras la búsqueda bibliográfica se encontró un artículo científico sobre un posible fármaco multidiana frente a las infecciones producidas por VIH y VHS-2 (9).

El artículo consiste en un ensayo experimental que estudia las propiedades antivirales de un prometedor compuesto multidiana sobre diferentes muestras infectadas por VIH y VHS-2. Ese compuesto, el 6-fosfonil-etoxi-metoxi-2,4-diaminopirimidina (PMEO-DAPym), es una molécula con estructura de nucleósido fosfonato acíclico (ANP), misma estructura que poseen diversos compuestos que muestran actividad inhibitoria frente a una amplia variedad de virus de ADN y retrovirus.

Para la obtención de este compuesto se efectuó un cribado de actividad sobre cientos de moléculas con estructura de ANP. De todas ellas, el PMEO-DAPym fue el que mostró mayor actividad inhibitoria sobre la replicación del VIH y del VHS-2. Además, presentó actividad inhibitoria sobre la entrada del VIH a la célula huésped.

Se comparó la actividad anti-VIH y anti-VHS-2 del PMEO-DAPym frente al tenofovir, un inhibidor de la transcriptasa inversa análogo de nucleótido usado para tratar el VIH, pero que también inhibe al VHS-2; y frente al adefovir, inhibidor de la transcriptasa inversa con estructura de ANP usado para tratar la hepatitis B, pero que también presenta potente actividad inhibitoria frente al VSH-2.

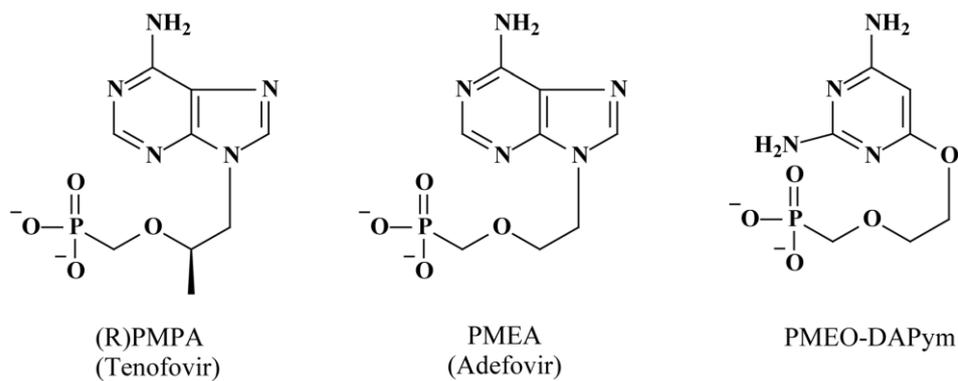


Ilustración 8: Comparación estructural entre el Tenofovir, Adefovir y PME O-DAPym.

Los resultados obtenidos demostraron que el compuesto PME O-DAPym es capaz de inhibir de manera eficiente una amplia variedad de cultivos aislados de VHS así como diversas cepas de VIH-1, mostrando además un perfil de resistencia cruzada más favorable que el adefovir y el tenofovir. También se mostró eficaz sobre cepas de VHS resistentes al aciclovir y cepas de VIH-1 resistentes a tenofovir. La base de su acción viral dual reside en su capacidad de inhibir de forma simultánea la ADN-polimerasa del VHS y la transcriptasa inversa del VIH. Este mecanismo de acción antiviral dual está respaldado por la capacidad del compuesto de inducir la producción de beta-quimiocinas, en particular las MIP-1 β , las MIP-1 α ; así como la capacidad de reducir los niveles de CCR5, un correceptor del VIH, siendo capaz de inhibir la entrada del virus a la célula.

PME O-DAPym demostró ser ligeramente menos eficaz que el adefovir frente a ratones atómicos infectados con VHS-2. Sin embargo, se mostró igual de efectivo que el adefovir frente a tejido humano linfóide infectado con el mismo virus. En todos los cultivos infectados con VHS, el PME O-DAPym mostró una actividad anti-herpética muy superior a la del tenofovir. Respecto a su capacidad anti-VIH, el PME O-DAPym mostró una eficacia similar a la del tenofovir en muestras infectadas con el virus, aunque con la capacidad de dificultar la entrada del VIH y dificultar su patogenicidad gracias a su capacidad inmuno-moduladora.

En definitiva, PME O-DAPym ha demostrado la capacidad de actuar contra dos patógenos virales al mismo tiempo por medio de múltiples dianas, con una capacidad similar o superior a los tratamientos convencionales y la capacidad de actuar por dianas distintas a las empleadas habitualmente en la terapéutica, lo que abre un prometedor campo de investigación en derivados de ANP que puedan ser utilizados en un futuro en la prevención y tratamiento de las infecciones concomitantes del VIH y VHS-2.

5.3 Tuberculosis multirresistente

La búsqueda en bases de datos arrojó un total de 7 artículos científicos que analizan el impacto de la resistencia a antibióticos en el tratamiento de la tuberculosis.

La información obtenida evidencia que ya existían mecanismos de resistencia a antibióticos por parte de la bacteria desde la década de 1950, poco después de que surgieran los primeros tratamientos efectivos contra la enfermedad con la introducción de la rifampicina (21). De base, el tratamiento contra *Mycobacterium tuberculosis* conlleva serias dificultades debido a la particular estructura de la pared celular del bacilo, que presenta escasez de porinas, escasa fluidez de sus componentes (principalmente ácido micólico) y elevado espesor; lo que conlleva a que los fármacos empleados tengan dificultades en penetrar a la célula (22).

Actualmente, las resistencias de la bacteria frente a los principales antituberculosos han supuesto una situación muy grave en la Salud pública, hasta el punto de que hoy día se calcula que hasta el 21% de los casos de tuberculosis están producidos por cepas MR (11). La situación resulta preocupante al analizar un estudio en el que la OMS reportó en 2016 que en menos del 10% de los infectados con tuberculosis MR, a nivel mundial, se consiguió la curación completa de la enfermedad (11), unos resultados ineficaces para contener una posible epidemia producida por la bacteria. El tratamiento actual de la tuberculosis consiste en asociar diferentes fármacos para evitar la selección de resistencias y prolongarlo el tiempo suficiente como para asegurar la curación completa y prevenir recaídas. Al menos uno de los fármacos debe tener buena acción bactericida (eliminar los bacilos en la fase de multiplicación durante la fase aguda de la enfermedad) y al menos otro tener buena acción esterilizante (eliminar a los bacilos en fase latente para prevenir recaídas) (11). Un ejemplo de tratamiento estándar contra una cepa MR sería (11):

Terapia anti-tuberculosa	
Indicación principal	Fármaco
Prevención de resistencias	Etambutol
Acción bactericida	Isoniazida
Acción esterilizante	Rifampicina

Los mecanismos de acción de estos fármacos son: (23)

- Isoniazida: Profármaco que se convierte al principio activo gracias a la enzima catalasa-peroxidasa de la bacteria, tras lo cual actúa interfiriendo con la síntesis de ácidos micólicos de la pared celular.
- Rifampicina: Interactúa con la ARN polimerasa bacteriana inhibiendo la replicación y síntesis del ácido nucleico del patógeno.
- Etambutol: inhibe el transporte de los ácidos micólicos hacia la pared celular por interacción con la arabinosiltransferasa, y bloquea la síntesis de arabinogalactano. Actúa contra bacilos en fase de multiplicación, impidiendo la proliferación de la bacteria.

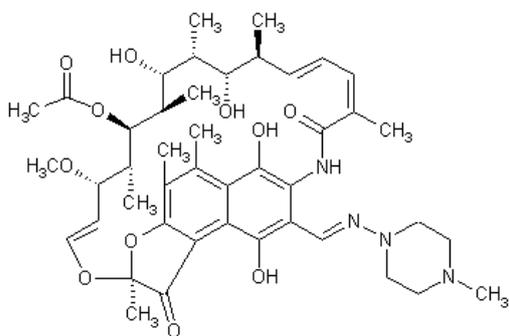


Ilustración 5: Rifampicina. Primer fármaco antituberculoso

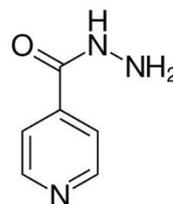


Ilustración 6: Isoniazida

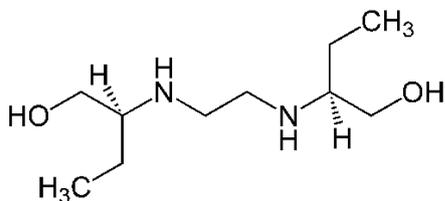


Ilustración 7: Etambutol

Los principales mecanismos de resistencia de la bacteria frente a estos medicamentos son (23):

- Frente a Isoniazida: La resistencia se desarrolla por una mutación en el gen *KatG*, que codifica la enzima catalasa-peroxidasa, lo que impide que el fármaco se transforme en su principio activo. Otro mecanismo de resistencia implica el gen *inhA* que codifica la síntesis de ácidos micólicos, la diana del fármaco.
- Frente a Rifampicina: La causa de la resistencia se asocia a determinadas mutaciones en la región 81 bp del gen *ropB* que codifica la subunidad beta de la ARN polimerasa.

- Frente a Etambutol: Consecuencia de una mutación en el gen embB que codifica la síntesis de arabinosiltransferasa, diana del fármaco.

En pacientes infectados el tratamiento consiste, por lo general, en una terapia combinada de Etambutol+Isoniazida+Rifampicina durante un período de 2 meses y se continúa con otra fase de 4 meses empleando Isoniazida+Rifampicina (21). Sin embargo, en el caso de cepas MR es necesario alargar el período de tratamiento, que se suele ampliar a 8 meses de terapia con Etambutol+Isoniazida+Rifampicina añadiendo Pirazinamida los primeros 3 meses y Estreptomicina los primeros 2 meses (24).

Entre los principales efectos secundarios de estos fármacos se encuentran la hepatitis, reacciones de hipersensibilidad, neuritis periférica y neuritis óptica (11). Debido al largo período de tratamiento y la administración simultánea de varios fármacos, los efectos adversos pueden llegar a suponer situaciones graves que requieran la suspensión del tratamiento y/o el ingreso hospitalario del paciente (12).

5.4 Fármaco multidiana frente a la tuberculosis multirresistente

Tras aplicar la metodología de búsqueda, se encontró un artículo científico acerca de una posible terapia multidiana contra la tuberculosis MR (12).

El artículo es un ensayo experimental acerca de los mecanismos de acción y actividad antimicrobiana de una serie de compuestos análogos estructuralmente a un nuevo fármaco antituberculoso, el SQ109, en fase II de ensayos clínicos al momento del estudio. Los objetivos del ensayo fueron determinar el mecanismo o mecanismos de acción del SQ109 y la relación estructura-actividad del mismo, así como desarrollar posibles modificaciones estructurales que conduzcan a fármacos aún más eficaces que el SQ109 en el tratamiento contra la tuberculosis MR.

El SQ109 se obtuvo tras un cribado de 64000 derivados etilendiamínicos del fármaco antituberculoso etambutol. Posee en su estructura una cadena lateral isoprenoide (geranilo) en C10, junto con un fragmento fuertemente básico (etilendiamina) que actúa como centro catiónico. El mecanismo de acción teórico, que se suponía antes del ensayo, era que actuaba mediante inhibición del MmpL3, un transportador de trehalosa monomiolato (TMM), una proteína de membrana esencial para la bacteria que transporta TMM para la síntesis de la membrana externa. Sin embargo, se propuso que la molécula

actúa en realidad por múltiples vías, ya que presenta actividad antimicrobiana contra otras bacterias como *Helicobacter pylori* u hongos como *Candida albicans*, y ninguno de estos microbios posee el gen codificante de MmpL3, por lo que se deduce que debe actuar a través de otros objetivos celulares. Un mecanismo de acción adicional que explicase dicha actividad podría ser la inhibición de la síntesis de isoprenoides, actuando como un isómero carbocatiónico de un intermedio reactivo de dicho proceso de síntesis, bloqueando el proceso.

Con el objetivo de definir los mecanismos de acción del compuesto y establecer su relación estructura-actividad, se sintetizaron 12 compuestos derivados del SQ109 a partir de modificaciones estructurales. Dichas modificaciones consistieron en variar la naturaleza del enlace de etilendiamina para obtener especies catiónicas, protonables y neutras; así como en sustituir el grupo adamantano en la molécula. Los compuestos ensayados se muestran en la figura 9.

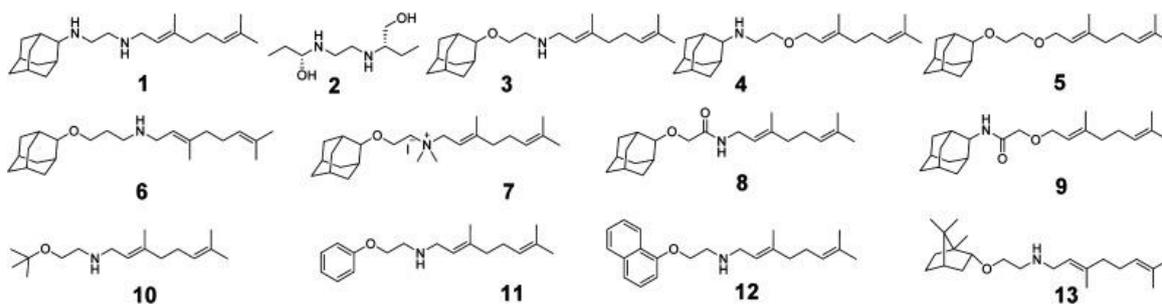


Ilustración 9: Se muestra el SQ109 (estructura 1), el etambutol (estructura 2) y los derivados sintetizados (estructuras 3-13).

Se comparó la actividad de todos los compuestos frente a un panel de bacterias (*M. tuberculosis*, *M. segmentatis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*), frente a dos levaduras (*Saccharomyces cerevisiae* y *Candida albicans*) y frente a un parásito de la malaria (*Plasmodium falciparum*). También se evaluó la capacidad de dichos compuestos de interferir con la síntesis de isoprenoides, con la síntesis de ATP y con la respiración celular. Los resultados obtenidos arrojaron las siguientes conclusiones:

- Poseer un grupo catiónico es fundamental para la actividad de la molécula. Los compuestos más activos frente a *Mycobacterium* poseían en su estructura un nitrógeno fuertemente básico en la región enlazadora de la molécula, siendo los compuestos con N-geraniletanolamina (3, 12 y 13) los que poseían la actividad más potente, con una actividad antituberculosa hasta 5 veces mayor que 1.

- El grupo catiónico es responsable de la actividad contra otras bacterias, hongos y el parásito de la malaria. Los compuestos con N-geraniletanolamina (3, 12 y 13) y N-geranilpropanolamina (6) fueron muy activos contra *B. subtilis*, *E. coli* y *S. aureus*. Además, se demuestra que hay mecanismos adicionales al bloqueo MmpL3, ya que *E. coli* no posee el gen codificante de dicha proteína. Contra la forma intraeritrocítica de *P. falciparum*, el compuesto (1) resultó el más activo, seguido de cerca por los compuestos con nitrógeno básico (3, 6, 12 y 13).
- SQ109 y sus análogos actúan mediante un mecanismo multidiana. Se evaluó la actividad de los compuestos frente a un panel que poseía enzimas implicadas en la síntesis de isoprenoides, MenA y MenG. Se encontró actividad frente a dichas enzimas, lo que se traduciría en una inhibición del crecimiento celular del bacilo. También se encontró actividad inhibitoria sobre el transporte de electrones (por efecto inhibitorio de la fuerza motriz del protón) y sobre la síntesis de ATP al aumentar el TMM intracelular a consecuencia del bloqueo del transportador MmpL3. Por último, se observó una relación entre la inhibición del crecimiento celular mediante bloqueo de la síntesis de isoprenoides y la inhibición de la respiración celular, con lo cual, también se inhibía el proceso de respiración en el bacilo. Las dianas farmacológicas de SQ109 y sus análogos se resumen en la imagen 10.

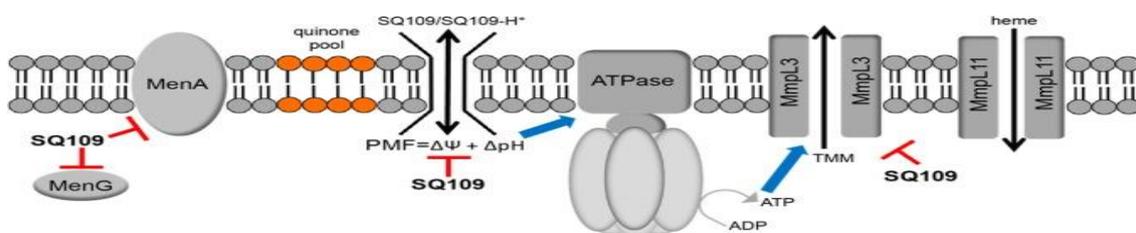


Ilustración 10: De izquierda a derecha: inhibición de MenG y MenA (biosíntesis de isoprenoides), inhibición del transporte de electrones y posterior reducción de la síntesis de ATP, bloqueo del transportador MmpL3.

Los datos obtenidos resultan de gran interés ya que demuestran que SQ109 emplea un mecanismo multidiana que le permite atacar a diferentes patógenos al mismo tiempo y por diferentes vías, dificultando el desarrollo de mecanismos de resistencia por parte de los microorganismos y reduciendo el número de fármacos necesarios. Por otra parte, la determinación de su relación estructura-actividad permite el desarrollo de compuestos análogos más potentes que permitan producir una serie de fármacos “resistentes a la resistencia” que permitan combatir las cepas MR tanto de *Mycobacterium tuberculosis* como de otros patógenos resistentes a los antibióticos actuales.

6 CONCLUSIONES

Los resultados de este trabajo evidencian la necesidad de profundizar en el desarrollo de fármacos multidiana como una estrategia eficaz en el campo de las enfermedades infecciosas. Los principales inconvenientes de los tratamientos monodiana convencionales son el rápido desarrollo de resistencias microbianas y la acumulación de reacciones adversas en las terapias de combinación, empleadas tanto para combatir dichas resistencias como para tratar infecciones múltiples.

El trabajo demuestra que existe una gran frecuencia de infecciones concomitantes por parte del VIH y VHS-2 en el mundo, evidenciando además la existencia de mecanismos de cooperación entre ambos patógenos. La necesidad de combinar diversos fármacos para tratar las dos enfermedades en los pacientes afectados, así como el prolongado tiempo de los tratamientos derivado de la cronicidad de estas enfermedades, aumenta el riesgo de aparición y gravedad de las reacciones adversas.

Tras estudiar el impacto de la resistencia a antibióticos por parte de *Mycobacterium tuberculosis*, se concluye que la prevalencia de cepas MR es considerablemente elevada en todo el mundo. Los tratamientos convencionales contra la tuberculosis MR se muestran poco eficaces, lo que podría llegar a suponer la imposibilidad de tratar dicha enfermedad en el futuro si no se desarrollan tratamientos que combatan al patógeno al mismo tiempo que eviten la aparición de más resistencias.

El compuesto PMEO-DAPym ha demostrado un gran potencial como posible fármaco multidiana para tratar infecciones concomitantes de VIH + VHS-2. No sólo posee una actividad inhibitoria de la replicación similar o superior a la de los fármacos convencionales usados para combatir cada enfermedad, sino que además actúa por mecanismos de acción adicionales, como dificultar la entrada del VIH a la célula. Además, su capacidad de inhibir ambos patógenos simultáneamente reduciría el riesgo de reacciones adversas e interacciones que existen en las terapias de combinación. Todo ello lo convierte en un posible candidato a convertirse en el primer fármaco multidiana creado para tratar estas dos enfermedades infecciosas al mismo tiempo.

Las pruebas sobre el fármaco antituberculoso SQ109 y sus derivados estructurales han mostrado su capacidad de atacar al patógeno por diversas vías y su efectividad tanto contra cepas comunes como multirresistentes. También se mostró capaz de actuar contra

diversos patógenos bacterianos, hongos y un patógeno de la malaria, por lo que podría emplearse el mismo fármaco para tratar una amplia variedad de enfermedades infecciosas; especialmente importante en los casos de infecciones concomitantes en un mismo individuo, sustituyendo las terapias convencionales basadas en cocktails de fármacos. Se estableció la relación estructura-actividad del fármaco, abriendo la posibilidad de desarrollar análogos del fármaco más eficaces.

En definitiva, se demuestra que los fármacos multidiana tienen el potencial de convertirse en un tratamiento eficaz en el campo de las enfermedades infecciosas; no sólo por su capacidad de combatir las resistencias microbianas sino por las ventajas que presentan sobre las terapias de combinación actuales como son la ausencia de interacciones farmacológicas, la simplicidad de la posología y la menor incidencia de reacciones adversas. Por lo tanto, se concluye que el campo de investigación en fármacos multidiana contra enfermedades infecciosas es muy prometedor y se debería incentivar el estudio y desarrollo de este tipo de compuestos.

7 BIBLIOGRAFÍA

1. **Druker, Michael W, Deininger, Brian J.** *Specific Targeted Therapy of Chronic Myelogenous Leukemia with Imatinib.* 2003, Pharmacological Reviews.
2. **Constantino L, Barlocco D.** *Challenges in the design of multitarget drugs against multifactorial pathologies: a new life for medicinal chemistry?* s.l. : future science group, 2012.
3. **Ramírez, Luis Enrique Soto.** 2, *Mecanismos patogénicos de la infección por VIH.* México : Revista de investigación clínica, 2004, Vol. 56. 0034-8376.
4. **La Rosa, E.** 1, s.l. *HERPES GENITAL.* : DERMATOLOGÍA PERUANA , 2000, Vol. 10.
5. **Angello R. Retamal-Díaz, Paula A. Suazo, Ignacio Garrido, Alexis M. Kalergis y Pablo A. González.** *Evasión de la respuesta inmune por virus herpes simplex.* Santiago, Chile. : Departamento de Genética, 2014.
6. **Bascones-Martínez A, Pousa-Castro X.** 1, s.l. *Herpesvirus.* : AVANCES EN ODONTOESTOMATOLOGÍA, 2011, Vol. 27.

7. **Freeman, Esther E, y otros.** s.l. *Herpes simplex virus 2 infection increases HIV acquisition in men and women: systematic review and meta-analysis of longitudinal studies.*: AIDS, 2006, Vol. 20.
8. **María José Martínez G, Nelson Navarrete N, Ester Santander C, María Luisa Garmendia M, Walter Gubelin H.** *Seroprevalencia de la infección por virus herpes simplex tipo 2 en pacientes atendidos en centros de referencia de ETS de Santiago.* Santiago de Chile : Rev Méd Chile, 2005.
9. **Balzarini J, Andrei G, Balestra E, Huskens D, Vanpouille C.** *A Multi-targeted Drug Candidate with Dual Anti-HIV and Anti-HSV Activity.* Roma, Bethesda, Praga : Guido Silvestri, Emory University, United States of America, 2013.
10. **Prevention, US Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and.** *Antibiotic resistance threats in the United States .* 2013.
11. **José A. Caminero, Joan A. Cayla, José-María García-García, Francisco J. García-Pérez.** *Diagnóstico y tratamiento de la tuberculosis con resistencia a fármacos.* 9, s.l. : SEPAR, 2017, Vol. 53.
12. **Kai Li, Lici A. Schurig-Briccio, Xinxin Feng, Ashutosh Upadhyay, Venugopal Pujari, Benoit Lechartier, Fabio L. Fontes, Hongliang Yang, Guodong Rao, Wei Zhu, Anmol Gulati, Joo Hwan No, Giovana Cintra, Shannon Bogue, Yi-Liang Liu, Katie Mo.** *Multitarget Drug Discovery for Tuberculosis and Other Infectious Diseases.* s.l. : Journal of Medicinal Chemistry, 2014, Vol. 57.
13. **Hagan H, Jenness M, Wendel M, Murrill, Neaigus A, Gelpi-Acosta.** *Herpes simplex virus type 2 associated with HIV infection among New York heterosexuals living in high-risk areas.* New York : s.n., 2010.
14. **P M Keet I, K Lee F, J P van Griensven G, M A Lange J, Nahmias A, Roel Coutinho.** *Herpes simplex virus Type 2 and other genital ulcerative infections as a risk factor for HIV-1 acquisition.* 66, Amsterdam : Genitourin Med, 1990.
15. **Lawrence Corey, M.D.** *Synergistic Copathogens — HIV-1 and HSV-2.* s.l. : The New England Journal of Medicine, 2007.
16. **Stefanidou M, Ramos I, Mas Casullo V, Trepanier J B, Rosenbaum S, FernándezSesma A, et al.** *Herpes simplex virus 2 (HSV-2) prevents dendritic cell*

maturation, induces apoptosis, and triggers release of proinflammatory cytokines: potential links to HSV-HIV synergy. - 87, s.l. : J Virol, 2013.

17. **Nicolas Nagot, M.D., Abdoulaye Ouédraogo, M.D., Vincent Foulongne, Ph.D., Issouf Konaté, M.D., Helen A. Weiss, Ph.D., Laurence Vergne, Ph.D., Marie-Christine Defer, Ph.D., Didier Djagbaré, M.Sc., Anselme Sanon, M.Sc., Jean-Baptiste Andonaba, M.D., Pierre.** *Reduction of HIV-1 RNA Levels with Therapy to Suppress Herpes Simplex Virus.* s.l. : ORIGINAL ARTICLE, 2007.

18. **Zamora L., Gatell J.M.** *Eficacia del tratamiento antirretroviral de inicio basado en lopinavir/ritonavir más 2 análogos de nucleósidos/nucleótidos en pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana-1.* Barcelona : Elsevier, 2014.

19. **E. Santos Corraliza, A. Fuertes Martín.** *Efectos adversos de los fármacos antirretrovirales. Fisiopatología, manifestaciones clínicas y tratamiento.* 7, Madrid : An. Med. Interna (Madrid), 2006, Vol. 23. 0212-7199.

20. **Ashwani Kumar Vashishtha, Robert D. Kuchta.** *Effects of Acyclovir, Foscarnet and Ribonucleotides on Herpes Simplex Virus-1 DNA Polymerase: Mechanistic Insights and a Novel Mechanism for Preventing Stable Incorporation of Ribonucleotides into DNA.* s.l. : Biochemistry, 2016.

21. **Gutiérrez-Aroca J.B, Ruiz P, Casal M.** *Resistencias a fármacos en Mycobacterium tuberculosis.* Córdoba : Rev Esp Quimioter, 2013.

22. **E. Quirós-Roldán, M. Airoidi, F. Moretti, G. Carosi.** *Bases moleculares de resistencia de Mycobacterium tuberculosis.* 4, s.l. : Revista de Diagnóstico Biológico, 2001, Vol. 50.

23. **Cuevas-Córdobaa B, Zenteno-Cuevas R.** *Tuberculosis drogorresistente: mecanismos moleculares y métodos diagnósticos.* 9, s.l. : Enfermedades infecciosas y Microbiología clínica, 2010, Vol. 28.

24. **Dr. Pino Alfonso P, Dr. Gassiot Nuño C, Dr. Rodríguez Vázquez J, Dr. Páez Prats I, Dr. Bareto Peiné J, Dr. Gundián González-Piñera J.** *Tratamiento de la tuberculosis resistente a múltiples drogas.* 1, s.l. : ACTA MEDICA, 1998, Vol. 8.