

FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
TRABAJO FIN DE GRADO

**ALCOXIALQUIL MONOÉSTERES DE FOSFATOS Y
FOSFONATOS COMO PROFÁRMACOS**

Autor: José Miguel Pérez Moreno

Fecha: Julio 2020

Tutor: Prof. Dr. Mónica María Söllhuber Kretzer

ÍNDICE

1. RESUMEN	3
1.1 ABSTRACT	3
2. OBJETIVOS	4
3. METODOLOGÍA.....	4
4. INTRODUCCIÓN.....	4
4.1 Mecanismo de acción.....	6
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	6
5.1 Profármacos del Tenofovir	9
5.1.1 Tenofovir	9
5.1.2 Profármacos del Tenofovir	9
5.1.3 Tenofovir exalidex (CMX157).....	10
5.2 Profármacos del cidofovir	11
5.2.1 Cidofovir	11
5.2.2 Brincidofovir (HDP-CDV) (CMX001).....	12
5.2.3 HDP-cycCDV	13
5.2.4 ODE-CDV (CMX002)	13
5.3 Profármacos del (S)-HPMPA	14
5.3.1 (S)-HPMPA	14
5.3.2 HDP-(S)-HPMPA y ODE-(S)-HPMPA.....	14
5.4 Profármacos del PMEG.....	15
5.4.1 PMEG	15
5.4.2 ODE-Bn-PMEG.....	16
5.4.2 HDP-PMEG	17
5.5 Profármacos de la Citarabina.....	18
5.5.1 Ara-C	18
5.5.2 HDP-cP-Ara-C y HDP-P-Ara-C.....	18
6. CONCLUSIÓN	19
7. BIBLIOGRAFÍA.....	20

1. RESUMEN

Se ha demostrado que los análogos de nucleósidos son ampliamente útiles como antivirales y antineoplásicos ya que, al ser análogos de bases del ADN y ARN son reconocidos por las correspondientes polimerasas sobre las que pueden ejercer una función inhibitoria. Para poder ser reconocidos por estas polimerasas el nucleósido debe estar en su forma bioactiva, el nucleótido trifosforilado. Generalmente, la primera fosforilación es el paso limitante de esta bioactivación. Por lo tanto, se pensó en usar en lugar del nucleósido su nucleótido monofosfato, pero este último presenta mala biodisponibilidad oral debido a varios factores: la gran polaridad de su grupo fosfato, ya que carece a diferencia de los nucleósidos de un sistema de transporte al interior de la célula, y además es metabolizado por las fosfatasas intestinales.

Este último factor se podría obviar con el empleo de fosfonatos o de profármacos tipo éster o amida de nucleótido monofosfato que adicionalmente permiten aumentar la lipofilia para facilitar su paso a través de las membranas. En este sentido ya hay muchos ejemplos de diésteres y de fosforamidas que se emplean con éxito en terapéutica.

Un nuevo campo lo constituyen los alcoxilalquil monoésteres de fosfatos y fosfonatos, los cuales permiten mejorar la biodisponibilidad oral aprovechando los mecanismos de transporte de fosfolípidos en el intestino y en la célula diana y contribuyen a disminuir la nefrotoxicidad de muchos de estos fármacos.

1.1 ABSTRACT

Nucleoside analogues have been found to be readily useful as antivirals and antineoplastic agents, and they are recognized as basic DNA and RNA analogues by the corresponding polymerases where they have an inhibitory function. To be recognized by these polymerases, the nucleoside must be in its bioactive form, the triphosphorylated nucleotide. Basically, the first phosphorylation is the limiting step of this bioactivation. Therefore, it was considered to use the nucleotide monophosphate in place of the nucleoside, but the monophosphate has poor oral bioavailability due to several factors: the high polarity of its phosphate group, not having a specific transport system inside the cell, and also being metabolized by intestinal phosphatases.

This last drawback could be avoided with the use of nucleotide phosphonates or monophosphate esters or amide-type prodrugs that additionally will increase lipophilicity to facilitate its passage through the membranes. In this regard, there are many examples of diesters and phosphoramides that are used successfully in therapy.

A new group of prodrugs in this field is constituted by the alkoxyalkyl monoesters of phosphates and phosphonates, which improve oral bioavailability by taking advantage of the phospholipid transport mechanisms in the intestine and in the target cell contributing additionally to reduce drug nephrotoxicity.

2. OBJETIVOS

En este trabajo se analizarán los alcoxilquil monoésteres de fosfato y fosfonato como profármacos de nucleótidos monofosfato, sus posibles aplicaciones como antivirales y antineoplásicos y sus ventajas frente a otros profármacos ya existentes.

3. METODOLOGÍA

Se ha hecho una revisión bibliográfica sobre los profármacos de nucleótidos monofosfato y fosfonato de tipo alcoxilquil monoéster y su consiguiente aportación terapéutica como antivirales y antineoplásicos. La información ha sido sacada de bases de datos informatizadas como PubMed, Science Direct y SciELO.

4. INTRODUCCIÓN

El diseño de análogos de nucleótidos y nucleósidos de las bases púricas y pirimídicas que componen los ácidos nucleicos ha constituido un antes y un después para el tratamiento de infecciones víricas y enfermedades oncológicas. El posterior desarrollo de los profármacos de sus correspondientes nucleótidos monofosfato y de derivados de tipo fosfonato ha abierto un abanico de nuevas posibilidades terapéuticas.

Como se indica en la figura 1 los análogos de nucleósidos no son compuestos activos, son profármacos que en la célula diana tienen que transformarse en sus correspondientes nucleótidos trifosfato para poder interactuar con las correspondientes polimerasas e integrarse en muchos casos en los ácidos nucleicos para ejercer su efecto biológico. Sin embargo, los nucleósidos trifosfato no pueden considerarse candidatos a fármacos viables. Por lo general, tienen poca estabilidad química, que, junto con alta polaridad, les impide el paso a través de las membranas celulares. Dentro de las fosforilaciones necesarias realizadas por quinasas para la bioactivación del nucleósido, la primera fosforilación es la que a menudo se ha identificado como el paso limitante. Este hecho, llevó a los investigadores a diseñar nucleótidos de tipo monofosfato "protegidos" capaces de liberar los nucleósidos monofosfato intracelularmente. (1)

La administración por vía oral de nucleótidos monofosfato no es factible debido a su inactivación en el lumen intestinal por la fosfatasa alcalina. Esta limitación se puede solventar sustituyendo el grupo fosfato por un fosfonato no hidrolizable. Por otra parte, como se ha indicado anteriormente, los nucleótidos monofosfato no pueden atravesar membranas lipídicas debido a la alta polaridad del fosfato, sin embargo, si se procede a la esterificación de este grupo funcional se logran obtener compuestos estables frente a fosfatasas que adicionalmente tienen la suficiente lipofilia para poder atravesar las membranas celulares (figura 1).

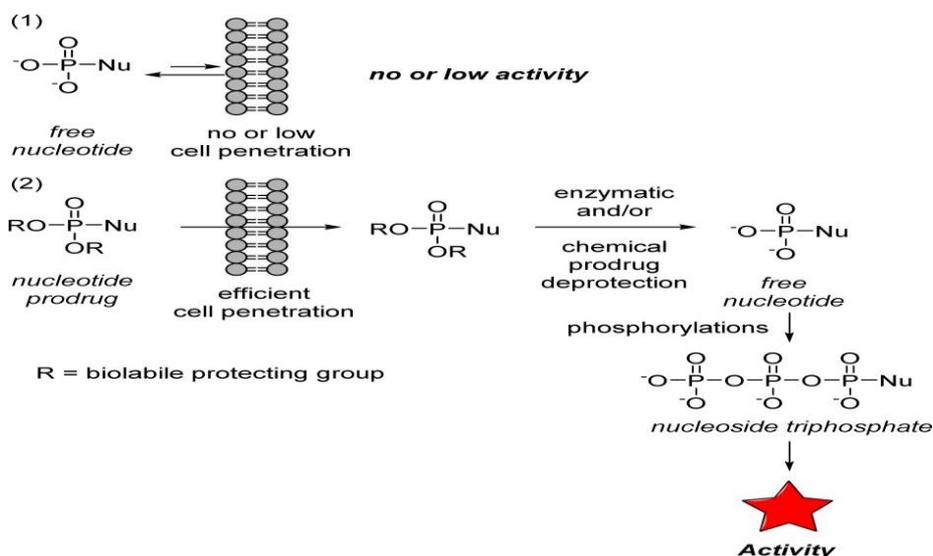


Figura 1. Mecanismo de acción nucleótido monofosfato⁽¹⁾

La necesidad de una alternativa para aumentar la biodisponibilidad oral de los monofosfatos de algunos análogos de nucleósidos, ha llevado a desarrollar distintos tipos de profármacos. Estos profármacos se pueden dividir en dos grandes grupos: profármacos de tipo fosfato o fosfonato y profármacos de tipo fosforamidato. Este trabajo se va a centrar en los profármacos tipo fosfato o fosfonato derivados de alcoxilalquil monoésteres (HDP, ODE...). (figura 2)

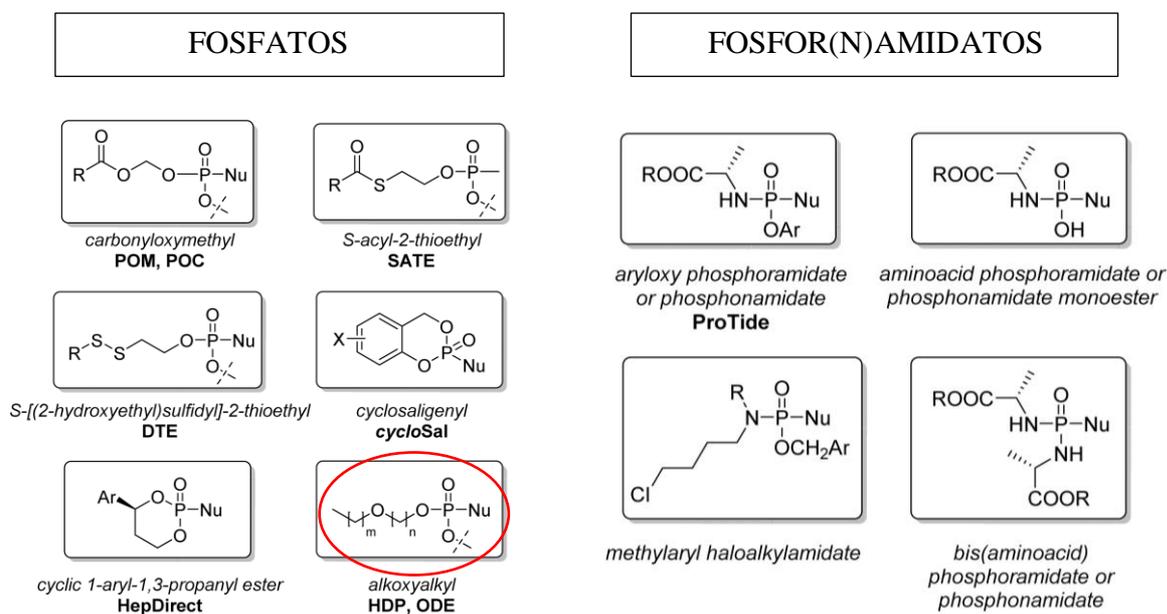


Figura 2: Clasificación profármacos de nucleotidos⁽¹⁾

Lo ideal es que la bioactivación del profármaco no se realice hasta que éste haya llegado a su diana, es decir, a la célula infectada o a la célula cancerígena. En la mayoría de los casos los primeros pasos de esta bioactivación ya se realizan por diversas enzimas en su trayecto hacia el hígado (efecto de primer paso) o en el torrente circulatorio lo que conlleva efectos secundarios y efecto tóxicos para el organismo.

Al liberarse el nucleótido monofosfato en el interior de la célula, las quinasas celulares lo convierten en su nucleótido trifosfato activo, responsable del efecto biológico. (1)

4.1 Mecanismo de acción

Una vez que se une a su diana es capaz de inhibir competitivamente las diversas DNA y RNA polimerasas (figura 3). En muchos casos además de producirse una inhibición de la polimerasa correspondiente, también se produce un efecto sobre la biosíntesis del correspondiente ácido nucleico. Este proceso se explica gracias a que por ejemplo algunos de estos fármacos pueden carecer del hidroxilo de la posición 3' lo que impide el anclaje de un nuevo nucleótido y el fármaco actúa como terminador de cadena impidiendo la replicación de DNA y RNA. (2)(3)

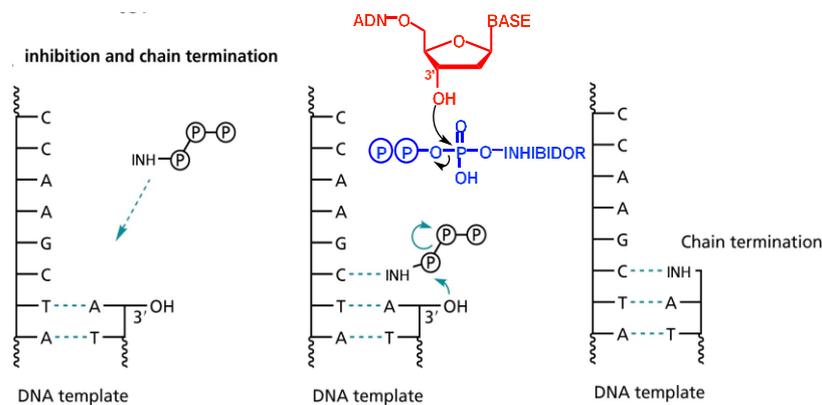


Figura 3: inhibición y terminación de cadena⁽³⁾

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como se ha indicado anteriormente, se ha diseñado una gran variedad de profármacos de nucleótidos monofosfato, pero nos vamos a centrar en los profármacos de nucleótidos monofosfato de tipo de alcoxilalquil monoésteres, así como en sus análogos fosfonato que recientemente han vuelto a acaparar el interés de los investigadores por una serie de propiedades fundamentales:

- Gracias a su estructura lipófila característica todos estos profármacos pueden usar el transporte específico de la lisofosfatidilcolina (LPC) para aumentar su biodisponibilidad, esto se puede observar, por ejemplo, en el caso de HDP-CDV que se explicará más adelante.
- Al ser un fosfato o fosfonato evitan la primera fosforilación intracelular, la cual suele ser la limitante. Por lo tanto, su bioactivación solo depende de dos fosforilaciones por cinasas celulares.
- Se reduce drásticamente su nefrotoxicidad, dado que estos profármacos no son reconocidos por los mecanismos de transporte, que causan la acumulación de sus nucleósidos en las células tubulares del riñón.

- Se aumenta la concentración y la vida media del fármaco dentro de las células, lo que permite una menor dosificación y una posología menos frecuente.
- Este último factor ha permitido en muchos casos ampliar el espectro de acción del fármaco original y ha añadido nuevas posibles aplicaciones terapéuticas para este profármaco que no tenía su análogo.

El diseño de este tipo de profármacos se basa en la lisofosfatidilcolina, un fosfolípido de la membrana celular humana. Este fosfolípido se caracteriza por atravesar con facilidad membranas celulares.

A diferencia de los diacilfosfolípidos como la fosfatidilcolina, los lisofosfolípidos (lisofosfatidilcolina) carecen del éster acílico en el sn-2 hidroxilo de glicerol, son en forma de cono y pueden alterar la estructura de la membrana fácilmente, permitiendo tasas rápidas de difusión dentro la célula. En cambio, la fosfatidilcolina tiene una estructura cilíndrica que le impide una rápida difusión a través de membranas celulares.

Por este motivo se va a partir de la estructura de la lisofosfatidilcolina para desarrollar profármacos con buena biodisponibilidad oral como es el caso del HDP-CDV.(figura 4)

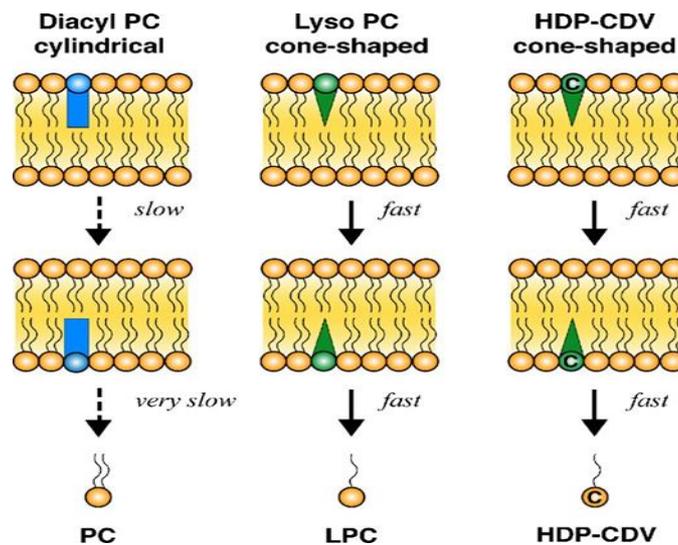


Figura 4: Interacciones de fosfatidilcolina, lisofosfatidilcolina y HDP-CDV con la bicapa de fosfolípidos.⁽²⁾

Para obtener estos profármacos, se sustituye el resto de colina de la lisofosfatidilcolina por el nucleósido, obteniendo un producto con características similares a los lisofosfolípidos e incrementando su absorción intestinal ya que utiliza la vía de captación natural de LPC en el intestino para llegar a los tejidos específicos y lograr un alto nivel de biodisponibilidad oral. (4)

En el intestino es absorbido por los enterocitos y una vez que el profármaco ha cruzado hasta el final de la membrana apical, es recogido por uno de los varios sistemas de transporte intracelular de fosfolípidos y pasará al retículo endoplásmico. El profármaco de alcoxilquilo monoéster se incorporará a los quilomicrones, y estos lo liberarán en el sistema linfático y finalmente en la sangre venosa, como si fuera una molécula más de lisofosfatidilcolina.

Si el imitador lipídico no fuera lo suficientemente hidrófobo, podría difundir al citosol del enterocito y atravesar la cara antiluminal de la membrana del enterocito. Este camino le llevaría a la vena porta y finalmente al hígado donde una pequeña parte sería metabolizada sin ejercer ninguna acción, pasando el resto del profármaco al torrente sanguíneo.(1)(2)

Una vez que el profármaco llega a la célula diana, enzimas intracelulares como la fosfolipasa C escinden el lípido para liberar el nucleótido monofosfato en el citoplasma de la célula, mejorándose de esta forma considerablemente la concentración intracelular del fármaco. (figura 5)

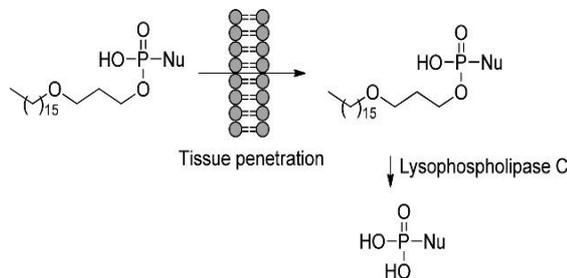


Figura 5: Paso a través de la membrana (1)

El desarrollo de estos profármacos se realizó por modificación de la estructura inicial de la lisofosfatidilcolina, para evitar reacciones metabólicas indeseadas (reacciones de hidrólisis de grupos fosfato o esterificación de funciones alcohólicas libres) y conseguir de esta forma un profarmaco más estable y activo. Así se sustituyó la función éster en la posición sn-1 del esqueleto de glicerol por una función éter para evitar la escisión por lisolecitinasas y el grupo hidroxilo en posición sn-2 del glicerol se sustituyó por otros agrupamientos funcionales, hidrógeno o radicales alquilo, para evitar una segunda acilación por acil transferasas de esta posición.(4) (figura 6)

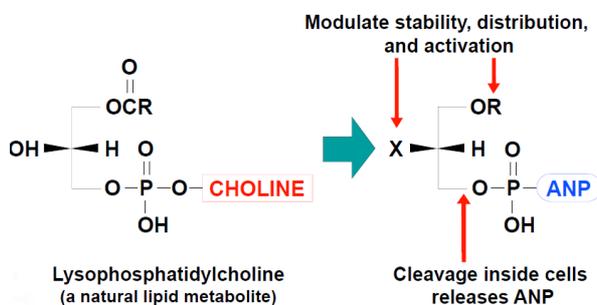


Figura 6: modificaciones de la LPC(4)

La estrategia de usar alcoxilalquil monoésteres surgió gracias a la necesidad de mejorar las propiedades del Ara-C (citarabina), fármaco contra la leucemia. El problema es, que Ara-C es degradado por la citidina desaminasa que transforma el Ara-C en Ara-U su metabolito inactivo. Sus alcoxilalquil monoésteres permiten enmascarar la polaridad del fosfato y evitar esta metabolización.

A continuación se describen varios ejemplos de profármacos de alcoxilalquil monoésteres de nucleótidos monofosfato y de fosfonatos.

5.1 Profármacos del Tenofovir

5.1.1 Tenofovir

El tenofovir (figura 7) es un fosfonato, análogo acíclico del ácido desoxiadénílico (d-AMP) con un efecto antiviral contra el virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) y el virus de la hepatitis B (VHB). El VIH utiliza una transcriptasa inversa (una enzima del VIH) para convertir su ARN en ADN vírico que es incorporado al material genético de la célula infectada. Esta transcriptasa inversa viral será la diana del tenofovir y sus análogos. En el caso de la hepatitis B, el tenofovir inhibirá la DNA polimerasa con actividad de transcriptasa inversa del VHB. En ambos casos su actividad es el resultado de un efecto competitivo con el sustrato natural desoxiadenosina-5'-trifosfato en el sitio de unión a la polimerasa. Por otra parte el fármaco activo tenofovir difosfato, una vez incorporado al ADN naciente, inhibe la elongación de la cadena de ADN. (5)

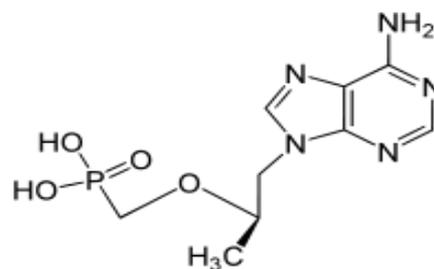


Figura 7: Tenofovir⁽⁵⁾

El tenofovir en su aplicación como fármaco presenta dos deficiencias, su baja biodisponibilidad oral que está entre el 25 y el 40% y su nefrotoxicidad que viene dada por la acumulación de su dianión en los túbulos proximales del riñón (5)(6) Ello ha hecho necesaria la búsqueda de profármacos del tenofovir.

5.1.2 Profármacos del Tenofovir

Actualmente se emplean dos profármacos del tenofovir en terapéutica que permiten aumentar su biodisponibilidad oral y reducir en parte su nefrotoxicidad.

El primero es el éster bis(isopropoxycarboniloximetilo) del tenofovir en su forma de sal soluble (fumarato de disoproxilo de tenofovir o TDF), (figura 8) que, aunque aumenta la absorción intestinal, sigue siendo sustrato de esterasas plasmáticas con lo que no se evita su nefrotoxicidad.

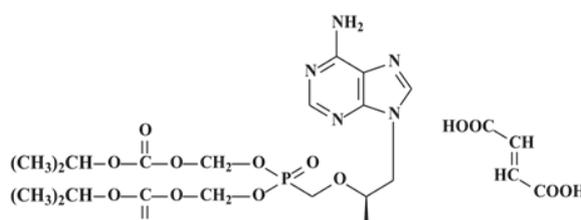


Figura 8: TDF⁽⁷⁾

El segundo es el profármaco tenofovir alafenamida [(2S)-2-[[[(1R)-2-(6-aminopurin-9-il)-1-metil-etoxi]metil-fenoxi-fosforil]amino]propanoato de isopropilo] también utilizado como fumarato, un profármaco del grupo de los protide desarrollados por Chris McGuigan, (figura 9)

de mayor actividad antiviral, mejor distribución en el sistema linfático y menor nefrotoxicidad que el profármaco anterior. (5)(6)

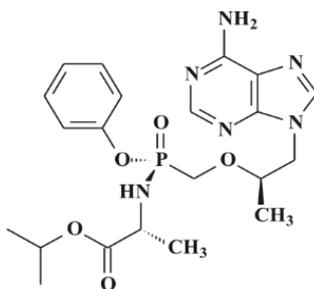


Figura 9: Tenofovir alafenamida⁽⁷⁾

5.1.3 Tenofovir exalidex (CMX157)

Un tercer profármaco del tenofovir que actualmente está en estudio es el tenofovir exalidex (CMX157) [(((R)-1-(6-amino-9H-purin-9-yl)propan-2-il)oxi)metil]fosfonato de 3-(hexadeciloxi)propilo e hidrógeno]. Aquí interesa su esterificación con un análogo de lisofosfolípido que aprovecha las vías de absorción de lisolecitina natural en el intestino y en la membrana celular, lo que resulta en una alta disponibilidad oral con la ventaja de no estar sujeto a la escisión en el plasma por esterasas inespecíficas, permanecer intacto en el plasma y facilitar adicionalmente la captación por las células hepáticas. (4)(5)

Gracias a este método, podemos obtener un profármaco análogo al tenofovir de segunda generación, el CMX157 (figura 10) que ha obtenido buenos resultados tanto in vitro como in vivo ensayándose en ratas y en voluntarios sanos. (5)

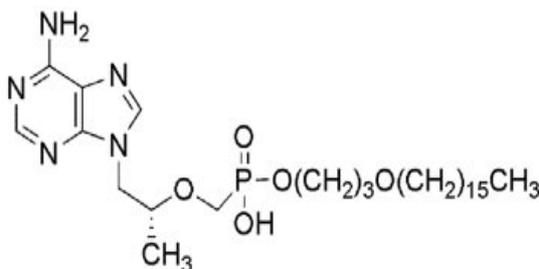


Figura 10: CMX157⁽⁵⁾

Se ha disminuido la CE50 aparente (mejor absorción celular de CMX157) con respecto al tenofovir, además no tiene toxicidad aparente cuando se administra por vía oral a ratas durante 7 días a dosis de 10, 30 o 100 mg / kg / día revelando que se ha conseguido disminuir el potencial de nefrotoxicidad. (8)

Se ha estudiado in vitro que el éster hexadeciloxipropílico de tenofovir, CMX157, es 267 veces más activo que tenofovir contra el VIH-1 y 4.5 veces más activo contra el VHB. (8)

Además, ha demostrado actividad contra cepas de VIH resistentes a los fármacos antirretrovirales (Zidovudina), haciéndolo un buen candidato para la realización de más

estudios clínicos, ya que últimamente está habiendo problemas con mutaciones en el virus que lo hace resistente a varios antivíricos de elección. (8)

Por último, se evaluó la actividad anti-VIH-1 de CMX157 en combinación con otros medicamentos antirretrovirales aprobados por la FDA. Se buscó algún tipo de interacción antagónica en células CEM-SS infectadas con VIH-1IIIIB, sin embargo, no se observaron interacciones antagónicas dentro de los rangos de concentración examinados para la eficacia antiviral entre CMX157 y antivíricos contra VIH aprobados por la FDA. (5)

Los ensayos en voluntarios sanos han demostrado que el tenofovir exalidex presenta niveles más bajos del metabolito tenofovir en torrente sanguíneo que el TDF por lo que causa menor toxicidad en riñón y huesos. Se ha observado una gran concentración de tenofovir en las células hepáticas lo que permite combatir al VHB con eficacia. (9)

5.2 Profármacos del cidofovir

5.2.1 Cidofovir

El cidofovir es un antiviral empleado en infecciones por adenovirus. Las infecciones por adenovirus producen elevadas tasas de morbilidad y mortalidad en los hospedadores inmunodeprimidos cursando con enfermedades respiratorias como neumonías, gastroenteritis, infecciones oculares, hemorragias, cistitis y enfermedad diseminada. Se conoce un total de 51 serotipos relacionados con infecciones humanas. El problema radica en que estas infecciones (mayoritariamente oculares) no tienen tratamiento aprobado. (10)

El cidofovir (figura 11) es un análogo acíclico de la desoxicitidina monofosfato. Inhibe la ADN polimerasa viral de numerosos virus ADN. Se utilizó durante un tiempo para el tratamiento por vía intravenosa de retinitis producida por citomegalovirus en pacientes HIV inmunodeprimidos. Es también un fármaco análogo al [S]-HPMPA (antiviral de amplio espectro). El cidofovir presenta actividad contra muchos serotipos de adenovirus (AdV), pero también contra muchos herpesvirus, papovavirus y poxvirus (viruela). (10)

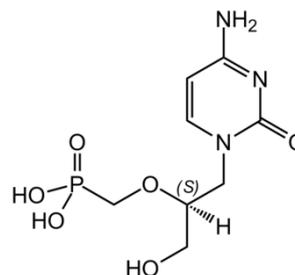


Figura 11: cidofovir⁽¹¹⁾

Las limitaciones en su aplicación terapéutica debido a su toxicidad, ha impulsado el desarrollo de diversas clases de profármacos lipídicos. Los primeros profármacos diseñados fueron potencialmente propensos a sufrir reacciones de oxidación en el resto alquilo, lo que podía conducir a ácidos carboxílicos de cadena corta que carecen de actividad antiviral. Para abordar este problema, se sintetizaron una serie de ésteres de alcoxilquilo los cuales tienen modificaciones en la estructura del residuo alquilo. (11)

Como los estudios del cidofovir para el tratamiento y profilaxis de enfermedades oculares en animales, han mostrado baja eficacia, se aplicaron los profármacos de tipo alcoxilquilo

monoésteres a su estudio, destacando entre todos el ODE-CDV (CMX002) y el HDP-CDV (CMX001), debido a que tienen las longitudes óptimas de cadena. (10)

Para determinar la longitud óptima para la cadena de alcoxilquilo, se sintetizaron series de análogos de CDV con cadenas de alcoxilquilo que van de 12 a 24 átomos viendo que la eficacia óptima está en torno a 20 átomos de carbono, como sucede en los profármacos HDP-CDV y ODE-CDV. Se ha demostrado que ésteres de alcoxilquilo con cadenas más cortas (12–16 átomos) o cadenas largas (24 átomos) exhiben menos actividad. Sin embargo, no solo el número de carbonos de la cadena condiciona la actividad, sino que también hay que tener en cuenta, el resto conector, y la presencia de un doble enlace en la cadena lateral vinculada al resto fosfonato.

Estos descensos de actividad son debidos al aumento de la solubilidad en agua de las cadenas cortas, mientras que el compuesto de 24 átomos tiene una fluidez más baja y puede verse obstaculizada su capacidad para atravesar membranas o sufrir una hidrólisis lenta por fosfolipasa C. (10)

5.2.2 Brincidofovir (HDP-CDV) (CMX001)

El HDP-CDV (figura 12) es un profármaco de cidofovir producido por la conjugación mediante un enlace covalente del CDV a un compuesto lipídico análogo a la fosfatidilcolina para que pueda utilizar la vía natural de captación de LPC (lisofosfatidilcolina) en el intestino y lograr una alta disponibilidad oral disminuyendo su toxicidad y aumentando la captación por las células diana. (11)

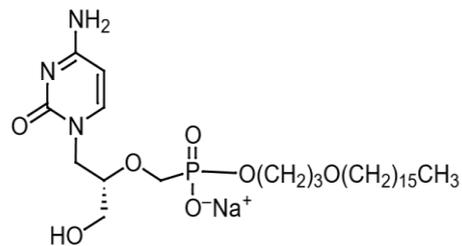


Figura 12: HDP-CDV⁽⁴⁾

El HDP-CDV, al igual que otros profármacos de este grupo tiene mayor estabilidad química que el CDV unido a una molécula de LPC sin modificar. La modificación se basa en un cambio de un hidroxilo de LPC reemplazándolo por un átomo de hidrógeno con el fin de evitar la reacilación por acción de la lisofosfatidilcolina aciltransferasas a diacilfosfatidil nucleósidos que atraviesan con dificultad y lentitud las membranas celulares. (4) (11)

Una vez que el HDP-CDV ha alcanzado el compartimento intracelular de la célula diana, se escinde la parte lipídica por la acción hidrolítica de la fosfolipasa C y se transforma en el cidofovir difosfato por acción de cinasas. Este último efectúa su acción como inhibidor de la DNA polimerasa. (11)

Para el brincidofovir se ha observado un incremento notablemente de la actividad antiviral contra los ortopoxvirus (viruela) en comparación con el CDV (4) y no solo esto, sino que también es activo contra virus de doble cadena de ADN como: citomegalovirus (CMV), herpes simple (HSV-1 y HSV-2), epstein barr (EBV), virus del papiloma humano y adenovirus. (11)

Su actividad contra la viruela está ganando importancia ya que se está produciendo una disminución de la de la inmunidad residual de la vacuna. Además, los enfermos inmunodeprimidos no son buenos candidatos para la vacuna por lo que es adecuada otra alternativa terapéutica como podría ser HDP-CDV. Por eso está bajo consideración como un agente para su inclusión en la Reserva Estratégica Nacional para uso de emergencia en caso de liberación del virus de la viruela o por complicaciones de la vacuna contra la viruela. (4)

Para el CMX001 se han completado actualmente los ensayos clínicos de fase I en voluntarios y están en curso ensayos de fase II en infecciones por CMV en pacientes con trasplante de células madre y en infecciones por el virus BK en pacientes con trasplante de riñón. Además, se ha utilizado con éxito en varias aplicaciones de emergencia (E-IND, Emergency Investigational New Drug) en pacientes con infecciones por CMV, HSV, adenovirus y virus BK. (11)

Es más, se utilizó este fármaco en investigación con una niña de nueve años con citopenia refractaria de la infancia dependiente de transfusiones (CCR). La niña después de recibir un trasplante de células hematopoyéticas de su padre, sufrió infección por varios procesos virales entre ellos el adenovirus. El tratamiento con brincidofovir (HDP-CDV) fue un éxito demostrando su eficacia en niños inmunodeprimidos tras recibir un trasplante. (12)

5.2.3 HDP-cycCDV

Es importante destacar que se ha seguido esta misma estrategia con un derivado cíclico del brincidofovir, la HDP-cycCDV (figura 13) que ha dado excelentes actividades en los estudios antivirales.

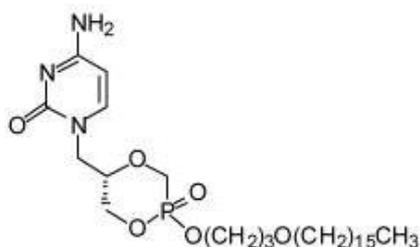


Figura 13: HDP-cycCDV⁽⁴⁾

Se ha demostrado que su eficacia frente a poxvirus es varias veces superior al HDP-CDV. Para explicar este hecho, se ha estudiado la capacidad de captación de las células de estos profármacos en fibroblastos de pulmón humano MRC-5, demostrándose que la diferencia de actividades es resultado a una mayor captación celular de HDP-cycCDV. Una vez ha entrado en la célula ambos profármacos serán metabolizados por fosfolipasas a CDV que será fosforilado hasta obtener el metabolito activo, el nucleótido difosfato.

5.2.4 ODE-CDV (CMX002)

Se ha estudiado el efecto de ODE-CDV (figura 14) sobre la proliferación de fibroblastos primarios en líneas celulares de cáncer cervical humano in vitro. ODE-CDV demostró tener una mayor actividad inhibitoria de la proliferación de células cancerígenas de cuello uterino que el CDV, incluso más que el HDP-CDV, mostrando una selectividad de 2.5 a 140 veces

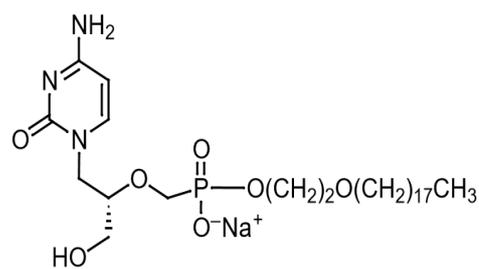


Figura 14: ODE-CDV⁽⁴⁾

mayor para las células de cáncer de cuello uterino frente a las células normales de fibroblastos humanos. (8) (13)

Además, se ha demostrado in vitro que ODE-CDV es aproximadamente 50 a 200 veces más activo que CDV contra viruela bovina (CV) y vaccina virus (VV) en células de fibroblastos humanos. (14)

Sin embargo, se ha visto que el ODE-CDV si bien tiene una actividad notable contra CMG (13), también tiene una elevada toxicidad siendo el profármaco de CDV que ha dado los valores más altos de toxicidad. (10) (14)

5.3 Profármacos del (S)-HPMPA

5.3.1 (S)-HPMPA

Como hemos dicho anteriormente el cidofovir es un fármaco análogo al (S)-HPMPA. El (S)-HPMPA es un antiviral de amplio espectro, es más activo contra poxvirus que CDV, concretamente de tres a diez veces más. Además, se está estudiando la actividad de sus profármacos contra el virus del herpes humano.

Los virus del herpes humano son un tipo de virus de ADN bicatenarios, que comprenden varios tipos como el virus del herpes simple tipo 1 y 2 (HSV-1 y HSV-2) y el virus varicela-zoster (VZV) o el citomegalovirus humano (HCMV). (15) (16)

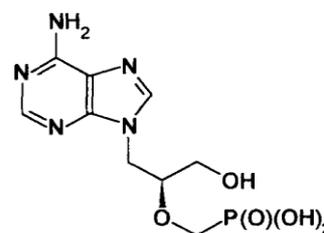


Figura 15: (S)-HPMPA⁽¹⁵⁾

El (S)-HPMPA (figura 15) es un fármaco con una gran capacidad antiviral abarcando un amplio espectro de virus de ADN. Sin embargo, se ha demostrado in vitro que tiene una mayor toxicidad.

De los estudios realizados para intentar reducir esta toxicidad en profármacos de tipo alcoxilquilo han surgido dos profármacos HDP-(S)-HPMPA y ODE-(S)-HPMPA. (16) (10)

5.3.2 HDP-(S)-HPMPA y ODE-(S)-HPMPA.

El ensayo con HDP-(S)-HPMPA (figura 16) y ODE-(S)-HPMPA (figura 17) dio como resultado un fuerte aumento en la actividad contra poxvirus siendo 160 a 270 veces superior al HPMPA en células infectadas y además se consiguió disminuir la toxicidad renal. (16) Se han encontrado diferencias en la actividad de ambos profármacos según la patología. Así, por ejemplo, en células infectadas por adenovirus, ODE-(S)-HPMPA fue significativamente más activo que HDP-(S)-HPMPA. Incluso se han encontrado nuevas actividades antivirales, ya que por ejemplo el (S)-HPMPA se mostró inactivo contra el VIH-1, sin embargo, sus ésteres HDP y ODE mostraron tener actividades notables. (16) (17)

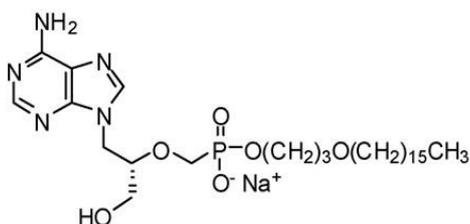


Figura 16: HDP-(S)-HPMPA⁽¹⁰⁾

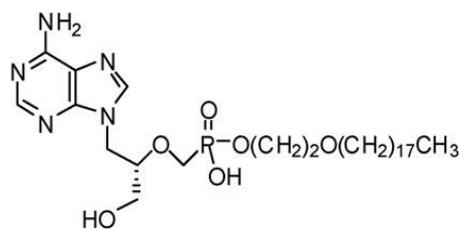


Figura 17: ODE-(S)-HPMPA⁽¹⁰⁾

También se han probado estos profármacos en cepas de VIH que tienen mutaciones en la transcriptasa inversa que las hace resistentes a fármacos como Zidovudina (AZT) o Lamivudina (M184V), demostrando tener una actividad casi completa. (17)

El gran aumento en la actividad antiviral in vitro de estos profármacos fue inesperado. Se ha visto que CDV y (S)-HPMPA inhiben la replicación de todos los virus de ADN, sin embargo, la actividad observada para los profármacos de alcoxilquilo no parece ser específica para un tipo particular de virus. Esto sugiere que la estrategia de alcoxilquilo éster puede aumentar el rango de actividad antiviral de un compuesto en algunos casos. (16) (17)

5.4 Profármacos del PMEG

5.4.1 PMEG

Los virus del papiloma humano (VPH) son un grupo de virus de transmisión sexual. Es un problema actual debido a que diversos genotipos significativamente más peligrosos como el VPH-16 y el VPH-18 son causantes de la mayoría de los carcinomas en el tracto ano genital, incluyendo el cáncer cervical, el segundo de más común malignidad en mujeres de todo el mundo. El problema radica en que actualmente no hay aprobados agentes antivirales contra él. (18) Esto se debe a que el HPV no codifica para una DNA polimerasa y para realizar la replicación de su DNA viral precisa de la DNA polimerasas del huésped y otras proteínas de replicación. El virus codifica para la proteína E2, que se une al origen de la replicación del ADN del VPH y ayuda a reclutar proteínas necesarias para la replicación como la helicasa E1 y formando más DNA de doble cadena del virus. (18) (19)

El PMEG (figura 18) es un nucleótido acíclico derivado del ácido desoxiguanfílico estudiado contra la infección por virus del papiloma de Shope (CRPV) en conejos y las infecciones por virus del papiloma humano tipo 11 (HPV-11) en ratones. Estos estudios demostraron que el PMEG inhibe las infecciones por HPV-11 de la piel humana, incluido el crecimiento de condilomas y la síntesis de ADN viral y antígeno de la cápside.

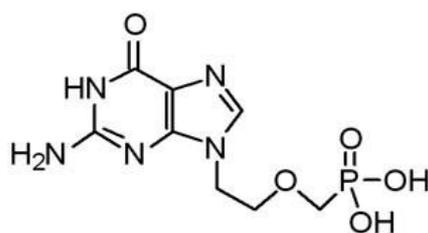


Figure 18: PMEG⁽²⁰⁾

La toxicidad del fármaco fue bastante significativa, por lo que se ensayaron sus profármacos de tipo alcoxilquil monoéster y se intentó ampliar el espectro para abarcar a más genotipos del VPH.

Entre los profármacos de 9-[(2-fosfometoxi)etil]guanina o PMEG estudiados (figura 18) fueron especialmente interesantes como inhibidores selectivos potentes del VPH-11 y del VPH-16, el diéster ODE-Bn-PMEG y el monoéster HDP-PMEG.⁽¹⁹⁾

Se realizaron ensayos de estos dos profármacos junto a otros antivirales en referencia a su actividad contra VPH, llegando a la conclusión de que el ODE-Bn-PMEG es el inhibidor más potente frente a VPH siendo 300 veces más potente comparado con el cidofovir. ⁽¹⁹⁾

5.4.2 ODE-Bn-PMEG

Como se ha indicado anteriormente la octadeciloxietil bencil 9-[(2-fosfometoxi)etil]guanina o ODE-Bn-PMEG (figura 19), es un profármaco que inhibe fuertemente los genotipos HPV-11, -HPV-16 y HPV-18 a concentraciones muy por debajo de sus concentraciones citotóxicas.

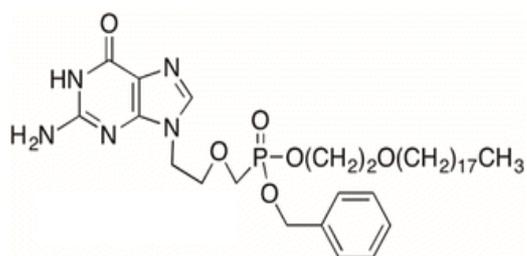


Figura 19: ODE-Bn-PMEG⁽¹⁹⁾

Otras de sus características es que permite distanciar los tiempos de administración del profármaco ya que al ser un diéster portador de bencilo exhibe una bioactivación intracelular muy lenta al metabolito difosforilado activo, proporcionando efectos sostenidos. ⁽¹⁸⁾ ⁽²¹⁾

El metabolito activo difosfato de PMEG es un potente terminador de cadena de ADN al carecer de hidroxilo en 3' e inhibe las polimerasas alfa, delta y épsilon. ⁽¹⁹⁾

También se estudiaron los enantiómeros P-quirales de ODE-Bn-PMEG encontrándose actividades antivirales equivalentes contra el VPH para ambos enantiómeros. También se han hecho estudios con ODE-Bn-PMEG frente a VIH, los estudios revelaron una gran actividad similar a la del AZT (Zidovudina). ⁽¹⁹⁾

5.4.2 HDP-PMEG

Otro alcoxilquilo monoéster derivado del PMEG que está ganando importancia, es el HDP-PMEG (figura 20). Este profármaco está en estudio para la prevención del desarrollo de la vitreoretinopatía proliferativa (PVR) ya que no existe ningún agente antiproliferativo eficaz para el tratamiento de la misma. (21)

La vitreoretinopatía proliferativa (PVR) es una enfermedad ocular cegadora resultado de una proliferación de células en el vítreo, provocando la formación de varias membranas. La PVR puede surgir a partir de diversas patologías como la retinopatía diabética, un trauma ocular y desprendimiento de retina reumatógeno, así como el procedimiento quirúrgico intraocular en sí. El tratamiento actual es quirúrgico, una vitrectomía, sin embargo, la formación recurrente de membranas puede conducir a un desprendimiento de retina y a un permanente deterioro de la visión. La intervención farmacológica se considera como un adyuvante al tratamiento quirúrgico de PVR. Lo ideal sería un fármaco de administración vítrea que tenga una semivida larga como la hexadeciloxipropil 9 - [(2-fosfometoxi) etil] guanina (HDP-PMEG). (21)

El HDP-PMEG (figura 20) es un profármaco alcoxilquilo lipofílico de cadena larga con un resto conjugado a PMEG a través de un enlace fosfonoéster. Es un potente inhibidor de la síntesis de ADN viral que está siendo evaluado por su actividad antiproliferativa intravítrea. Un profármaco de alcoxilquilo de PMEG (HDP-PMEG) debe ser poco soluble en agua y formar fácilmente un depósito intravítreo del fármaco. Esto es necesario ya que hay que mantener el tratamiento dos meses después de la operación, ya que el tiempo medio para desarrollar PVR después de la cirugía es de aproximadamente entre uno y dos meses. (19)

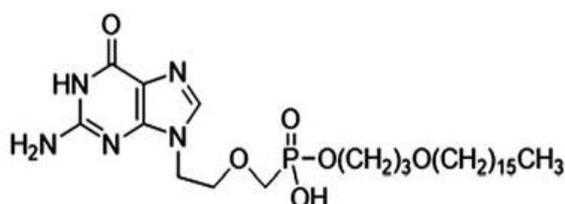


Figura 20: HDP-PMEG⁽¹⁸⁾

La toxicidad del HDP-PMEG se evaluó en conejos (volumen vítreo relativamente cercano al humano) llegando a la conclusión que la dosis no tóxica es de 3mg. La parte lipófila, el HDP, liberado en la escisión del profármaco no es tóxica. La efectividad del fármaco se ensayó induciendo una proliferación fibrovascular por láser en ojo de rata obteniendo muy buenos resultados. Esto lleva a la conclusión de que el HDP-PMEG podría ser el único fármaco ocular prometedor para prevenir la recurrencia de PVR después de una cirugía primaria. (21)

Este profármaco también ha sido comparado con otros fármacos antiproliferativos aprobados por la FDA (Food and Drug Administration) como el 5-fluorouracilo (5-FU) o la daunorrubicina observándose una mayor actividad por parte del profármaco HDP-PMEG. (20)

5.5 Profármacos de la Citarabina

5.5.1 Ara-C

La citarabina (1-β-D-arabinofuranosilcitosina, Ara-C) es otro análogo de bases pirimídicas utilizado como agente quimioterápico para el tratamiento de neoplasias hematológicas como el linfoma intraocular. Su mecanismo antiproliferativo se basa en la inhibición de la síntesis de ADN (Fase S), ya que presenta citotoxicidad contra células en esta fase.

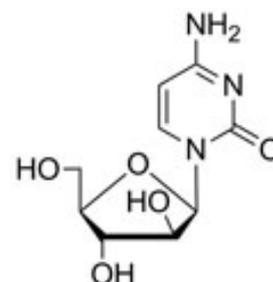


Figura 21: Ara-C⁽²²⁾

Se ha demostrado que Ara-C (figura 21) posee mejor eficacia antiproliferativa que su metabolito activo (Ara-C trifosfato) *in vitro* ya que no es objetivo de fosfatasa mejorando su estabilidad. Por lo tanto, sería un buen candidato contra la vitreoretinopatía proliferativa (PVR) antes explicada.

Como sucede con otros análogos de nucleósidos polares, el tratamiento local con citarabina requiere frecuentes inyecciones postoperatorias debido a su rápida eliminación del vítreo.

5.5.2 HDP-cP-Ara-C y HDP-P-Ara-C

La baja biodisponibilidad de la citarabina en el vítreo hizo necesario el desarrollo de profármacos lipídicos para lograr una administración intraocular sostenida. Los dos profármacos desarrollados son la hexadeciloxipropilo citarabina cíclica 3', 5'-monofosfato HDP-cP-Ara-C (figura 22) y la hexadeciloxipropil citarabina 5'-monofosfato, HDP-P-Ara-C (figura 23). El objetivo era la síntesis de profármacos con actividad antiproliferativa escasamente solubles en agua para una administración por vía intravítrea.

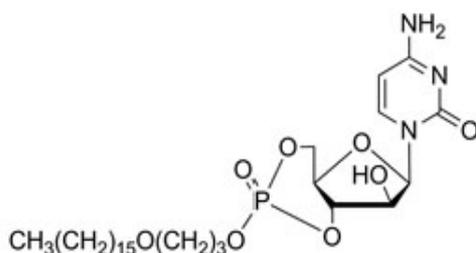


Figura 22: HDP-cP-Ara-C⁽²²⁾

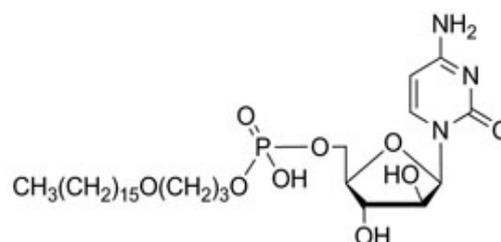


Figura 23: HDP-P-Ara-C⁽²²⁾

Estos profármacos se probaron en dos líneas celulares oculares, ARPE-19 y rMC-1.

Ambos compuestos fueron más potentes en la inhibición de las células de Müller de rata (rMC-1) que en las células ARPE-19. La cinética de aclaramiento demostró que en el caso del HDP-P-Ara-C a los tres días ya se había eliminado el 99% del producto, en cambio el HDP-cP-Ara-

C demostró tener un aclaramiento mucho más lento (detectable hasta 36 días), lo que pone en manifiesto la diferencia de solubilidades siendo la del HDP-P-Ara-C la mayor. La rápida eliminación de HDP-P-Ara-C es resultado de ser análogos de fosfolípidos que forman fácilmente micelas en agua, en cambio con una estructura cíclica como la del HDP-cP-Ara-C se obtuvieron valores de solubilidad mucho más bajos.

Los estudios de toxicidad que se realizaron en ojos de conejos fueron negativos, excepto a la dosis más alta de HDP-cP-Ara-C (800 µg / ojo), que tenía toxicidad focal por el contacto directo con la retina. (22)

6. CONCLUSIÓN

Los profármacos de alcoxilquilo monoésteres de fosfatos y fosfonatos han supuesto un gran avance en el campo de la terapia antiviral y antineoplásica. Al ser nucleótidos monofosfato y análogos fosfonatos sufren una bioactivación más rápida ya que precinden de la primera fosforilación por cinasas, al llevar ya el fosfato incorporado.

Estos profármacos se caracterizan por sus restos alcoxilquilo que los convierten en análogos de lisofosfatidilcolina, confiriéndoles una mayor absorción debido a que pueden usar mecanismos de transporte a través de las membranas típicos de la lecitina. La toxicidad también se ha visto disminuida ya que no se produce la acumulación de nucleósido fosfonatos en las células tubulares del riñón. Por último, en muchos casos se ha aumentado el espectro de acción antiviral.

Se ha desarrollado una gran variedad de alcoxilquilo monoésteres, derivados de nucleótidos monofosfato que presentan mala absorción oral y cierta toxicidad como el cidofovir, el tenofovir, el HPMPA, Ara-C...

La bioactivación del profármaco se produce gracias a la fosfolipasa C dejando libre al fosfato o fosfonato para su posterior transformación en nucleótido trifosfato, la especie activa.

En principio estas modificaciones han sido pensadas para el aumento de la biodisponibilidad oral, pero se han realizado estudios para mejorar considerablemente otras vías de administración como la vítrea estudiada en los casos del HDP-PMEG, HDP-cP-Ara-C y HDP-P-Ara-C. Estos profármacos han demostrado una gran actividad y una administración vítrea segura siendo unos buenos candidatos para vitreoretinopatía proliferativa (PVR).

Los alcoxilquilmonoésteres de nucleótidos monofosfato están dando lugar a una gran variedad de candidatos antivirales prometedores para diferentes patologías como VIH (CMX157), adenovirus (HDP-CDV y ODE-CDV), virus del herpes humano (HDP-(S)-HPMPA y ODE-(S)-HPMPA) y el virus del papiloma humano (ODE-Bn-PMEG y HDP-PMEG). Los profármacos de nucleótidos monofosfato o fosfonato de tipo alcoxilquilo monoésteres tienen un futuro prometedor en nuevos tratamientos de diferentes patologías virales.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Pradere U, Garnier-Amblard EC, Coats SJ, Amblard F, Schinazi RF. Synthesis of Nucleoside Phosphate and Phosphonate Prodrugs. *Chemical Reviews*, 2014 , 114(18) : 9154-9218.
2. Lanier RE. Rational Design of Nucleoside Phosphonates for Intracellular Delivery Using Lipid Conjugation. <https://www.chimerix.com/wp-content/uploads/2015/12/Presentation-Rational-Design-of-Nucleoside-Phosphonates-for-Intracellular-Delivery-Using-Lipid-Conjugation-May-15.pdf>
3. Patric GL, “An introduction to Medicinal Chemistry”, 5th edition, 2013, chapter 9, page 130, Oxford University Press, United Kingdom.
4. Painter GR, Hostetler KY. Design and development of oral drugs for the prophylaxis and treatment of smallpox infection. *Trends in Biotechnology* 2004; 22(8):423-427.
5. Lanier ER, Ptak RG, Lampert BM, Keilholz L, Hartman T, Buckheit RW, et al. Development of hexadecyloxypropyl tenofovir (CMX157) for treatment of infection caused by wild-type and nucleoside/nucleotide-resistant HIV. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010;54(7):2901-9
6. Wassner C, Bradley N, Lee Y. A Review and Clinical Understanding of Tenofovir: Tenofovir Disoproxil Fumarate versus Tenofovir Alafenamide. *Journal of the International Association of Providers of AIDS Care* 2020 Jan;19:2325958220919231. doi: [10.1177/2325958220919231](https://doi.org/10.1177/2325958220919231)
7. Kaminsky R, Schmid C, Grether Y, HolY A, Clercq ED, Naesens L, et al. (S)-9-(3-hydroxy-2-phosphonylmethoxypropyl)adenine [(S)-HPMPA]: a purine analogue with trypanocidal activity in vitro and in vivo. *Tropical Medicine & International Health* 1996;1(2):255-263.
8. Painter GR, Almond MR, Trost LC, Lampert BM, Neyts J, De Clercq E, et al. Evaluation of Hexadecyloxypropyl-9-R-[2-(Phosphonomethoxy)Propyl]- Adenine, CMX157, as a Potential Treatment for Human Immunodeficiency Virus Type 1 and Hepatitis B Virus Infections. *Antimicrobial Agents & Chemotherapy* 2007 ;51(10):3505-3509
9. Tanwadee T. Besifovir and tenofovir exalidex look promising as new hepatitis B drugs. 2017. <https://www.aidsmap.com/news/may-2017/besifovir-and-tenofovir-exalidex-look-promising-new-hepatitis-b-drugs>
10. Hartline CB, Gustin KM, Wan WB, Ciesla SL, Beadle JR, Hostetler KY, et al. Ether Lipid-Ester Prodrugs of Acyclic Nucleoside Phosphonates: Activity against Adenovirus Replication In Vitro. *Journal of Infectious Diseases* 2005 ;191(3):396-399
11. Hostetler KY. Synthesis and Early Development of Hexadecyloxypropyl-cidofovir: An Oral Antipoxvirus Nucleoside Phosphonate. *Viruses* 2010 ;2(10):2213-2225.
12. Van Genechten T, van Heerden J, Bauters T, Dhooge C. Successful Treatment of Adenovirus Infection with Brincidofovir in an Immunocompromised Patient after Hematological Stem Cell Transplantation. *Case Reports in Infectious Diseases* 2020 Jan 9; 2020:1-3
13. Kern ER, Collins DJ, Wan W, Beadle JR, Hostetler KY, Quenelle DC. Oral Treatment of Murine Cytomegalovirus Infections with Ether Lipid Esters of Cidofovir. *Antimicrobial Agents & Chemotherapy* 2004 ;48(9):3516-3522.

14. Hostetler KY. Alkoxyalkyl prodrugs of acyclic nucleoside phosphonates enhance oral antiviral activity and reduce toxicity: Current state of the art. *Antiviral Research* 2009 May;82(2):A84-A98.
15. Kaminsky R, Schmid C, Grether Y, Holy A, Clercq ED, Naesens L, et al. (S)-9-(3-hydroxy-2-phosphonylmethoxypropyl)adenine [(S)-HPMPA]: a purine analogue with trypanocidal activity in vitro and in vivo. *Tropical Medicine & International Health* 1996;1(2):255-263.
16. Oral treatment of cowpox and vaccinia virus infections in mice with ether lipid esters of cidofovir. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 2004;48(2):404-412.
17. Hostetler KY, Aldern KA, Wan WB, Ciesla SL, Beadle JR. Alkoxyalkyl Esters of (S)-9-[3-Hydroxy-2-(Phosphonomethoxy)Propyl]Adenine Are Potent Inhibitors of the Replication of Wild-Type and Drug-Resistant Human Immunodeficiency Virus Type 1 In Vitro. *Antimicrobial Agents & Chemotherapy* 2006 ;50(8):2857-2859.
18. Banerjee NS, Wang H, Beadle JR, Hostetler KY, Chow LT. Evaluation of ODE-Bn-PMEG, an acyclic nucleoside phosphonate prodrug, as an antiviral against productive HPV infection in 3D organotypic epithelial cultures. *Antiviral Research* 2018 ;150:164-173
19. Beadle JR, Valiaeva N, Yang G, Yu J, Broker TR, Aldern KA, et al. Synthesis and Antiviral Evaluation of Octadecyloxyethyl Benzyl 9-[(2-Phosphonomethoxy)ethyl]guanine (ODE-Bn-PMEG), a Potent Inhibitor of Transient HPV DNA Amplification. *Journal of Medicinal Chemistry* 2016 ;59(23):10470-10478.
20. Hou J, Li Y, Zhou Z, Valiaeva N, Beadle JR, Hostetler K, et al. Antiproliferative property of hexadecyloxypropyl 9-[2-(phosphonomethoxy) ethyl] guanine (HDP-PMEG) for unwanted ocular proliferation. *Molecular vision* 2011;17(72):627-637
21. Chen M, Hou J, Tan G, Xie P, Freeman WR, Beadle JR, et al. A novel lipid prodrug strategy for sustained delivery of hexadecyloxypropyl 9-[2-(phosphonomethoxy)ethyl]guanine (HDP-PMEG) on unwanted ocular proliferation. *Drug Delivery* 2017;24(1):1703-1712.
22. Kim JS, Beadle JR, Freeman WR, Hostetler KY, Hartmann K, Valiaeva N, et al. A novel cytarabine crystalline lipid prodrug: hexadecyloxypropyl cytarabine 3',5'-cyclic monophosphate for proliferative vitreoretinopathy. *Molecular vision* 2012;18(197-98):1907-1917.