



FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
TRABAJO FIN DE GRADO

**PROFÁRMACOS DE NUCLEÓTIDOS:
FOSFATOS Y FOSFONATOS**

Autora: Mirian Villaseñor Casero

Tutora: Mónica Söllhuber Kretzer

Convocatoria: Julio 2018

RESUMEN

Los análogos de nucleósidos, presentan la capacidad de interferir en la biosíntesis del ADN o ARN siendo, por tanto, empleados como antivirales y antineoplásicos. La lenta conversión en nucleósido monofosfato y en su especie activa trifosforilada motivó el desarrollo de nucleótidos monofosforilados, pero la elevada polaridad del grupo fosfato trae consigo una mala biodisponibilidad oral en estos compuestos. Ello hace necesario el diseño de profármacos que enmascaren estos grupos fosfato para mejorar la lipofilia y el paso a través de membranas.

En los últimos años se han desarrollado diversas estrategias en el diseño de profármacos de nucleótidos que intentan mejorar su bioselectividad y su biodisponibilidad oral. Se pueden distinguir dos grupos principales: los fosfatos y los fosforamidatos.

Se hará referencia a los profármacos del grupo fosfato (o fosfonato) destacando entre ellos la importancia de los carboniloximetil derivados, así como de conceptos de profármacos más novedosos como son los alcoxilalquil derivados que se activan por fosfolipasas endógenas, los HepDirect diseñados para una bioactivación selectiva en el hígado, y otros profármacos aún en estudio como son los cycloSal y los SATE.

ABSTRACT

Nucleoside analogues have the ability to interfere in the biosynthesis of DNA or RNA, being therefore used as antiviral and antineoplastics. The slow conversion to nucleoside monophosphate and its triphosphorylated active species led to the development of monophosphorylated nucleotides, but the high polarity of the phosphate group results in poor oral bioavailability in these compounds.

This makes it necessary to design prodrugs that mask these phosphate groups to improve lipophilicity and passage through membranes.

In recent years, various strategies have been developed in the design of nucleotide prodrugs that seek to improve their bioselectivity and oral bioavailability. Two main groups can be distinguished: phosphates and phosphoramidates.

Reference will be made to phosphate (or phosphonate) prodrugs, highlighting among them the importance of the carbonyloxymethyl derivatives, as well as the concepts of more novel prodrugs such as the alkoxyalkyl derivatives that are activated by endogenous phospholipases, the HepDirect prodrugs designed for a selective bioactivation. in the liver, and other prodrugs still under study such as cycloSal and SATE prodrugs.

1. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

El descubrimiento del potencial terapéutico de los análogos de nucleósidos ha abierto la puerta a un nuevo grupo terapéutico frente a enfermedades virales y cáncer. Debido a su similitud estructural con los nucleósidos naturales, pueden sustituir a éstos en la biosíntesis de ADN o ARN e inhibir su replicación; para ello, antes deben sufrir un proceso de fosforilación mediado por quinasas celulares que genera el metabolito activo trifosforilado (1).

Se trata de un mecanismo de fosforilación lento que limita la eficacia de estos fármacos nucleosídicos, siendo la adición del primer grupo fosfato el paso limitante en la formación del metabolito activo. Esto condujo al diseño de análogos de nucleótidos, derivados monofosfato de nucleósidos que, al incorporar el primer grupo fosfato permiten una conversión al metabolito activo trifosforilado mucho más rápida y eficaz (2) (3).

Sin embargo, esta modificación estructural trae consigo una serie de limitaciones farmacocinéticas. Una de ellas es la baja biodisponibilidad oral, debida a la polaridad que le confiere el grupo fosfato, que limita su uso por esta vía. Además, se observa una elevada inestabilidad in vivo. Esto es debido a que el grupo fosfato es atacado por la fosfatasa alcalina intestinal (3). Esta última limitación se puede obviar en determinados casos mediante la sustitución del grupo fosfato por un grupo fosfonato que no es atacado por estas enzimas (3). Finalmente, tanto la barrera intestinal como la célula diana sólo poseen sistemas de transporte de membrana específicos para nucleósidos, pero no para nucleótidos.

Esto ha llevado a desarrollar nuevos métodos con los que conseguir enmascarar el grupo fosfato, es decir, hacer un profármaco del nucleótido. Gracias a esta estrategia se conseguiría, por un lado, aumentar la lipofilia y mejorar así la biodisponibilidad oral y el paso a través de membranas. Por otra parte se consigue de esta forma aumentar la estabilidad in vivo al impedir la degradación del grupo fosfato por las fosfatasas (1).

Las grandes ventajas que presenta el desarrollo de profármacos de nucleótidos han motivado que, en los últimos años, comience a consolidarse como una herramienta eficaz en la terapia antiviral y anticancerígena al aumentar la eficacia y selectividad de estos fármacos y disminuir su toxicidad y sus efectos adversos asociados.

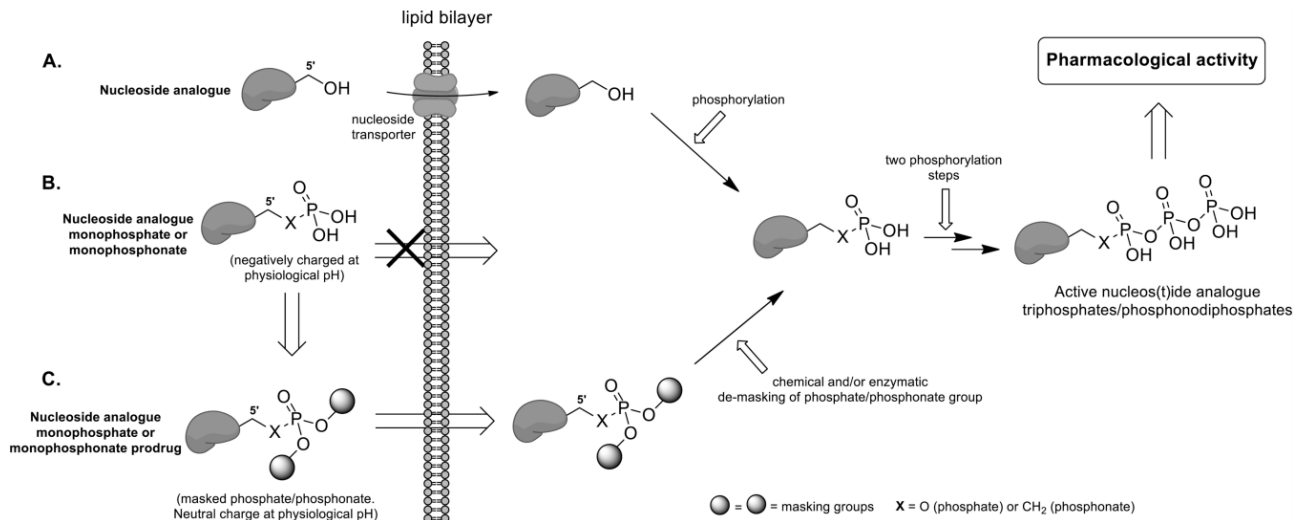


Figura 1. Esquema general de bioactivación intracelular de nucleósidos y de profármacos de nucleósidos monofosforilados para dar los metabolitos farmacológicamente activos.

2. OBJETIVOS

Como se ha visto anteriormente, los análogos de los nucleósidos trifosfato, responsables del efecto terapéutico, no son útiles como fármacos debido a su alta polaridad y a su baja estabilidad química que impiden su paso a través de las membranas celulares.

Por otra parte, se sabe que el paso limitante de la formación del nucleósido trifosfato es la formación del monofosfato. Ello ha llevado al planteamiento de diseñar nucleósidos monofosfato “protegidos”, capaces de liberar al nucleótido en el interior de la célula.

Estos profármacos serán capaces de atravesar las membranas biológicas y llegar a las células diana, a diferencia de los nucleósidos monofosfato. Una vez en el interior de la célula diana, el profármaco sufrirá una degradación enzimática y/o química liberando el nucleósido monofosfato susceptible de transformarse dentro de la célula en el trifosfato responsable de la acción biológica.

Se ha visto que estos profármacos no sólo son capaces de aumentar la actividad de los nucleósidos originales, sino que incluso en muchos casos, nucleósidos que resultaron ser inactivos en ensayos biológicos debido a su precaria fosforilación intracelular, han llegado a transformarse en profármacos muy útiles en la terapia antiviral (HIV, HBC, HCV) y anticancerígena.

Entre las posibles formas de “enmascarar” el grupo fosfato de estos nucleótidos se pueden distinguir a priori desde una perspectiva química dos grupos: profármacos de tipo fosfato o fosfonato y profármacos de tipo fosforamidatos o fosfonamidato (Figura 2).

En el presente trabajo se analizarán los profármacos de tipo fosfato o fosfonato, profundizándose en las ventajas que presentan algunas de las diferentes familias que los componen y entre los que destacan los HepDirect, los carboniloximetil derivados (POC y POM) y los alcoxilalquilderivados.

3. METODOLOGÍA

Se ha llevado a cabo una revisión bibliográfica sobre las nuevas estrategias en el desarrollo de profármacos de nucleótidos y su aportación terapéutica como antivirales y antineoplásicos. La información ha sido obtenida de diversas bases de datos informatizadas como PubMed, Science Direct y SciELO, entre otras.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los últimos 20 años se han desarrollado diversas estrategias para el diseño de profármacos de nucleósidos monofosfato que se diferencian en la forma de “enmascarar” la función fosfato o fosfonato. Estos profármacos se pueden dividir en dos grandes grupos: profármacos de tipo fosfato (o fosfonato) y profármacos de tipo fosforamidato (o fosfonamidato) (Figura 2).

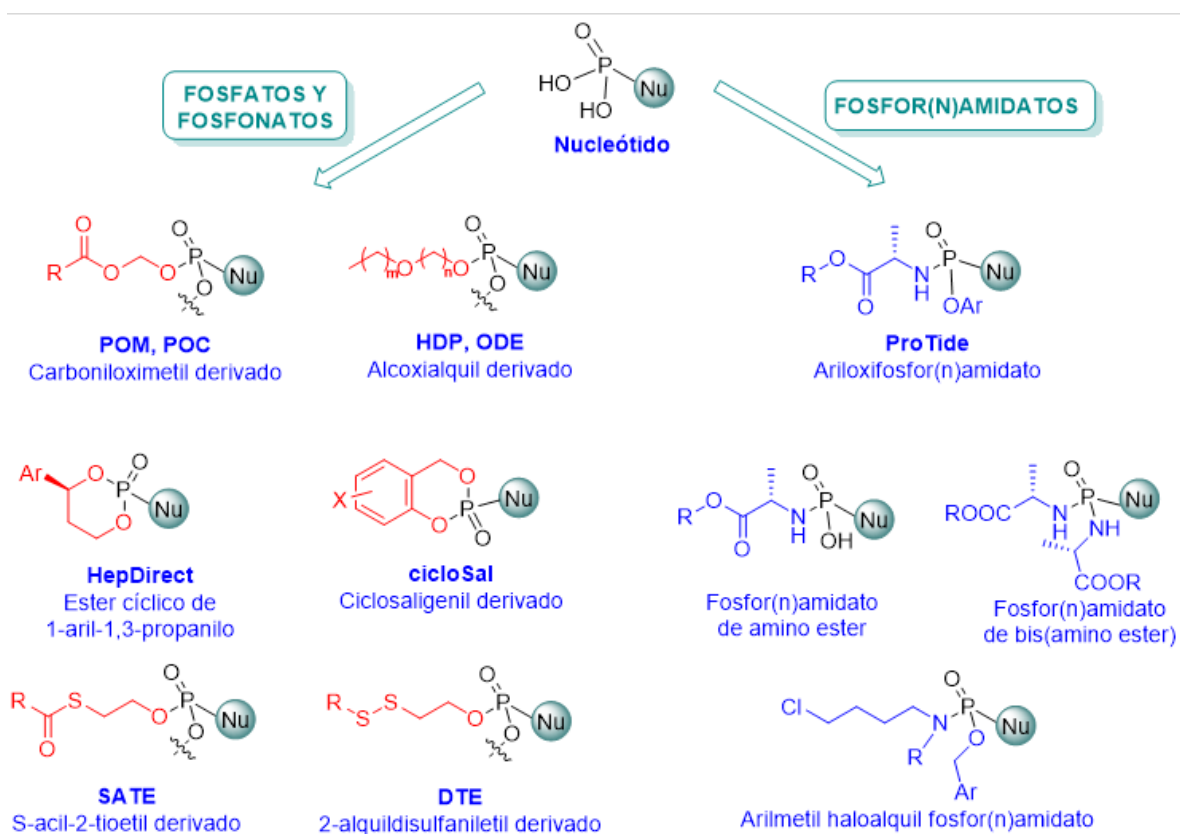


Figura 2. Clasificación de los diferentes profármacos de nucleósido monofosfato.

Este trabajo se centrará en los profármacos de tipo fosfato y fosfonato. Se revisarán las características de cada tipo de profármaco, su bioactivación, los profármacos en uso terapéutico y/o en ensayos clínicos, haciendo especial referencia a los grupos actualmente más importantes, como son los carboniloximetil derivados, los HepDirect y los alcoxilalquil derivados.

4.1. Carboniloximetil derivados: Profármacos BisPOM y BisPOC

Estos profármacos han sido ampliamente utilizados con éxito en la terapia antiviral desde su descubrimiento. El tenofovir disoproxilato se emplea desde 2001 en el tratamiento del SIDA y desde 2008 en el tratamiento de la hepatitis B crónica. El adefovir dipivoxilo se emplea desde 2002 en el tratamiento de la hepatitis B crónica (Figura 3). En estos profármacos los dos hidroxilos del grupo fosfonato están enmascarados por sustituyentes que presentan una elevada lipofilia. Si el sustituyente empleado es el pivaloiloximetilo los profármacos resultantes se conocen como BisPOM. Si el sustituyente empleado es isopropiloxycarboniloximetilo serán profármacos bisPOC. En cualquier caso, la bioactivación de estos dos tipos de profármacos se inicia por esterasas endógenas.

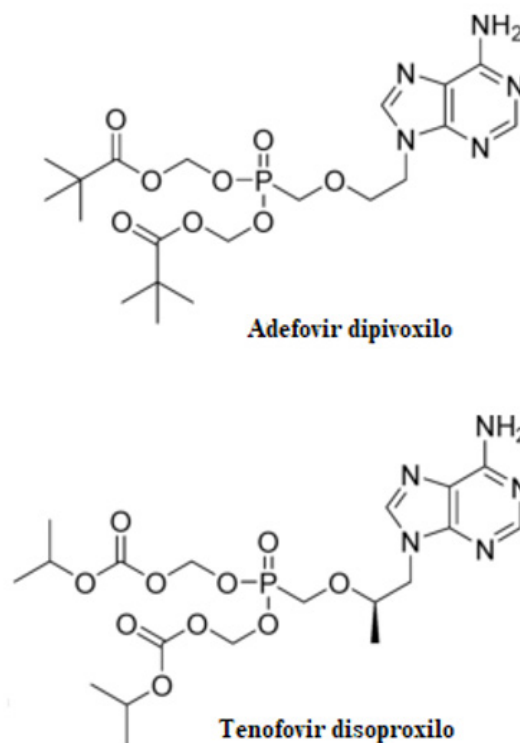


Figura 3. Estructura química profármacos bisPOM y bisPOC, adefovir dipivoxilo y tenofovir disoproxilato.

Aunque en ambos casos la bioactivación está mediada por esterasas, la biodegradación es diferente para ambos tipos de profármacos, como puede observarse en la (Figura 4).

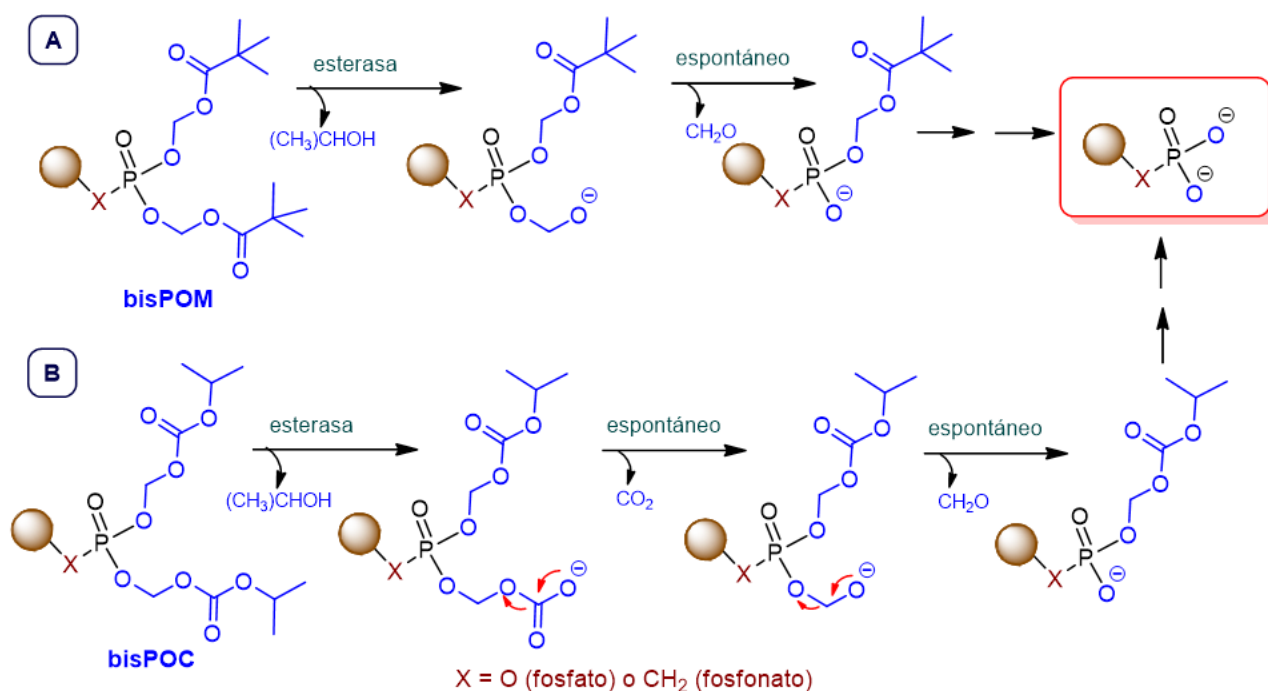


Figura 4. Mecanismo de bioactivación de los profármacos bisPOM (A) y bisPOC (B).

Dentro de este grupo, el besifovir está en desarrollo clínico para el tratamiento de la hepatitis B.

Besifovir

Besifovir es un profármaco de tipo bis-POM, que ha demostrado activo frente a cepas silvestres del virus de la hepatitis B, así como frente a cepas HBV resistentes a diferentes antivirales HBV. Presenta una buena absorción oral y se biodegrada rápidamente en el hígado e intestino según se indica en la (Figura 5) (1)(4).

Como la oxidación del anillo de la purina se realiza preferentemente por oxidasas hepáticas como la xantina oxidasa, el 40% del metabolito activo se encuentra en el hígado; se trata, por tanto, de un fármaco altamente selectivo. Además, la elevada semivida plasmática permite una administración espaciada de cada 11 días aproximadamente (1). La eliminación del fármaco se lleva a cabo principalmente por vía urinaria, entorno al 80% (4).

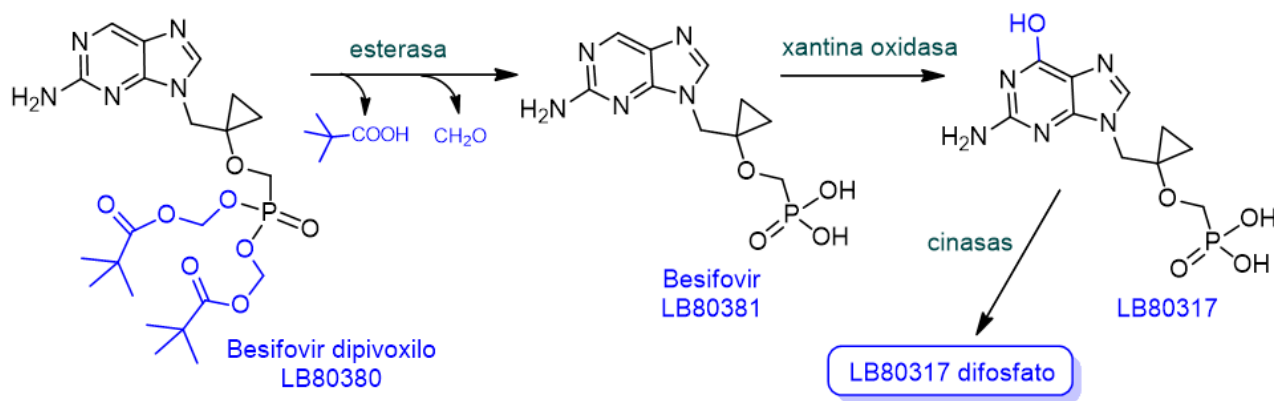


Figura 5. Estructura y conversión de besifovir en su metabolito activo.

A lo largo de estos años el besifovir ha sido sometido a diferentes ensayos clínicos en los que se ha evaluado su eficacia frente al virus de la hepatitis B. Los resultados emplazan al profármaco besifovir como prometedor en el control de viremias, especialmente en aquellos casos en los que se han desarrollado resistencias a otros antivirales.

Se han realizado varios ensayos en los que se evalúa la eficacia de besifovir en pacientes con resistencia a lamivudina (4). En un ensayo de fase II que evaluaba la eficacia y seguridad de la administración de besifovir durante 12 semanas en pacientes resistentes a lamivudina, se demostró que besifovir era capaz de disminuir la carga viral de VHB y, además, se observó que esta actividad era dependiente de la dosis que oscila entre 30 y 240 mg/día. Besifovir fue bien tolerado pero aparecieron fluctuaciones significativas en el aclaramiento de creatinina, que exigen investigaciones con un mayor número de sujetos y durante más tiempo. Tratamientos de 48 semanas condujeron a una reducción de la carga viral considerable (1).

Besifovir también fue evaluado en pacientes que habían desarrollado resistencia a lamivudina, adefovir, entecavir y telbivudina; en estos casos también demostró ser eficaz disminuyendo la carga viral en los pacientes (4)(5).

El principal efecto secundario notificado en el tratamiento con besifovir fue la depleción de carnitina, así como la disminución de la fosfatemia. La carnitina permite el transporte de ácidos grasos del citosol a las mitocondrias durante la descomposición de los ácidos grasos para generar energía. Para los pacientes que sufrieron depleción de carnitina fue necesario administrar un suplemento. Esta depleción es debida a la presencia de un resto piválico en la molécula. Los fármacos que presentan este resto de ácido piválico están relacionados con bajos niveles de carnitina, incluso cuando el fármaco ha sido administrado durante un corto periodo de tiempo (6).

4.2. Profármacos HepDirect

La estrategia HepDirect fue diseñada con el fin de lograr una bioactivación selectiva en el hígado. En este tipo de profármacos el grupo fosfato es enmascarado a través de la formación de un óxido de fenildioxafosfinato que, cuando llega al hígado, es metabolizado por el citocromo CYP450, concretamente su isoforma 3A4, liberando el fármaco activo en su lugar de acción, los hepatocitos en el hígado. La oxidación se produce en la posición bencílica que genera la apertura espontánea del anillo. El intermedio formado sufre un proceso de beta-eliminación espontánea tras la cual se libera el fármaco con su grupo monofosfato libre (Figura 6). La oxidación en posición bencílica es dependiente de la estereoquímica del compuesto ya que sólo los isómeros de configuración cis presentan actividad.

Estos profármacos han sido pensados expresamente para el tratamiento de enfermedades hepáticas ya que gracias a esta estrategia se consiguen elevados niveles del fármaco activo en los hepatocitos en detrimento de los niveles sistémicos (1). Actualmente se encuentran dos profármacos en desarrollo clínico: pradefovir y MB07133.

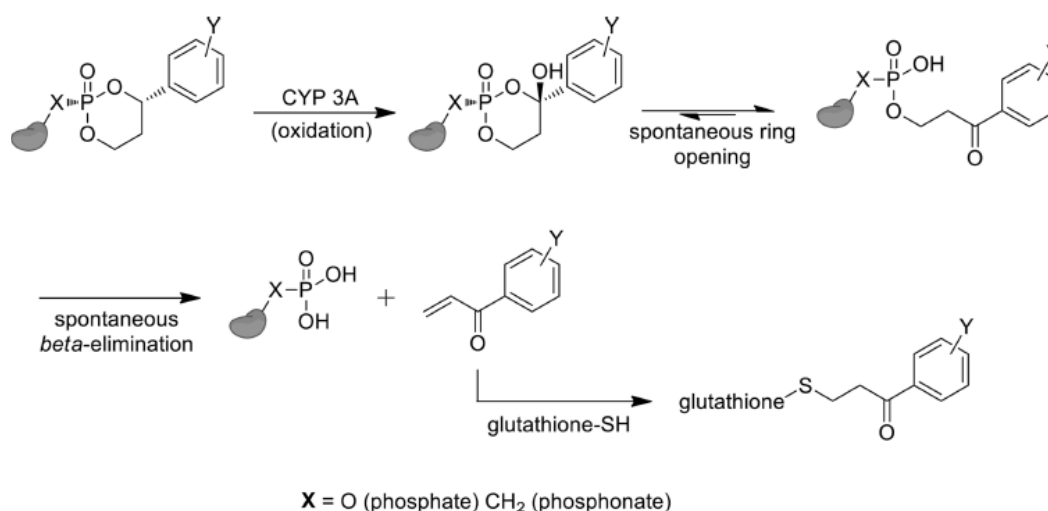


Figura 6. Bioactivación de los profármacos HepDirect mediado por el CYP450 en el hígado

Pradefovir

El pradefovir (Figura 7), también conocido como MB-06886 y que se utiliza en forma de sal de mesilato, es otro profármaco de adefovir (1). El adefovir está indicado para el tratamiento de la hepatitis B que presenta una excelente actividad in vitro. Su biodisponibilidad oral es muy baja y además, produce graves problemas de nefrotoxicidad al tener que ser administrado a elevadas dosis (7). Para solventar este problema se diseñó inicialmente un profármaco, el adefovir dipivoxilo, que soluciona los problemas farmacocinéticos, pero sigue produciendo ne

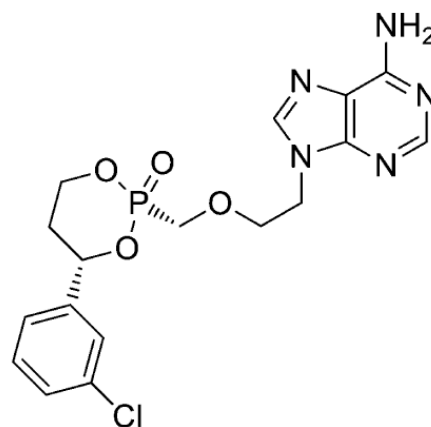


Figura 7. Estructura química de Pradefovir

frotoxicidad en un elevado número de pacientes. Se aprobaron dosis de 10 mg/día ya que dosis superiores provocan severos daños renales (8).

El pradefovir es un profármaco HepDirect del adefovir que llegará inalterado al hígado debido a que es muy resistente a las esterasas localizadas en los tejidos humanos. En el hígado se bioactivará por acción del CYP 3A4, lo que permite disminuir la nefrotoxicidad y los efectos adversos en beneficio del índice terapéutico (9) (Figura 8).

En cuanto a la relación estructura-actividad de los HepDirect se observó que la adición de sustituyentes alquilo al fenilo producía una disminución de la velocidad de activación y, con ello, menores niveles intracelulares de adefovir difosfato. En cambio, los sustituyentes halógenos, y en especial el cloro, mejoran la bioactivación del profármaco. (8).

Además, como ya se citó anteriormente, para que se lleve a cabo la oxidación en posición bencílica por el CYP3A4 es necesario que el compuesto presente isomería cis (1), siendo el enantiómero de configuración 2R,4S el eutómero. (1)(8).

En los ensayos llevados a cabo en ratas se observó que el uso de pradefovir traía consigo una disminución en la toxicidad renal así como una baja acumulación en huesos; por otro lado, los niveles de fármaco activo en el hígado eran 12 veces superiores a los niveles de fármaco activo en hígado observados para una administración de adefovir (1)(10).

Se llevó a cabo un ensayo en pacientes con hepatitis B crónica, aleatorizado, de grupos paralelos, abierto y multicéntrico en el que se comparó la eficacia y seguridad de adefovir a dosis de 10mg/día frente a pradefovir a dosis de 5, 10, 20 y 30 mg/día durante 48 semanas.

En este ensayo participaron 244 pacientes y en él se demostró que pradefovir era más eficaz y seguro a las dosis empleadas que el adefovir. Las reacciones adversas más frecuentes tras la administración de pradefovir se registraron a dosis de 30 mg/día y fueron, entre otras, diarrea, dispepsia y dolor de cabeza (11).

Otro ensayo publicado en 2017 evaluó la seguridad, efectos adversos, farmacocinética y farmacogenética del pradefovir. Se seleccionaron cinco

individuos sanos que fueron divididos en cinco grupos y se aleatorizaron dentro de cada grupo en una proporción de 3:1:1 para recibir una única dosis ascendente de pradefovir (10, 30, 60, 90 o 120 mg), 10 mg de adefovir dipivoxil o placebo, respectivamente.

El estudio concluyó que pradefovir era bien tolerado hasta dosis diarias de 120 mg, ningún sujeto suspendió el tratamiento debido a los efectos adversos (7).

Actualmente está en curso un estudio en fase II del pradefovir como candidato a ser usado por vía oral en su forma de sal mesilato que al aumentar la solubilidad en agua alcanza una biodisponibilidad oral del 42% frente al 31% del fármaco original (1)(8).

MB07133

El MB07133 es un profármaco de un análogo de citarabina desarrollado para el tratamiento del carcinoma hepatocelular (1).

La citarabina o AraC se emplea para el tratamiento de la leucemia crónica, pero presenta una eficacia limitada para el tratamiento de tumores sólidos al no alcanzar los niveles citotóxicos necesarios.

Los motivos por los que no se alcanzan los niveles necesarios son dos; por un lado, el limitado número de transportadores que permitan una concentración adecuada dentro de la célula y, por otro, al tratarse de un análogo de nucleósido presenta una fosforilación deficitaria in vivo generando sólo bajas concentraciones intracelulares de la especie activa, citarabina trifosfato (AraCTP) (1) (12).

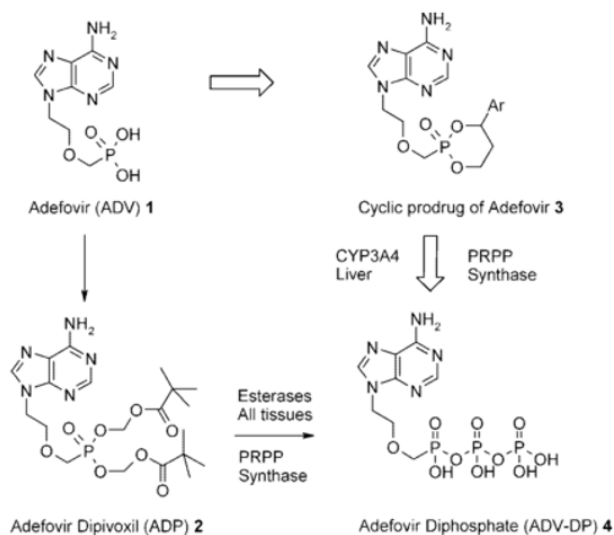


Figura 8. Secuencia de activación de adefovir, adefovir dipivoxil y el profármaco cíclico.

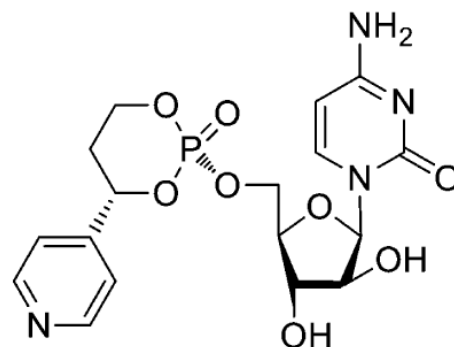


Figura 9. Estructura MB07133, profármaco de citarabina.

El diseño de profármacos clásicos de AraCMP, con el objetivo de mejorar la fosforilación in vivo (12) y conseguir mejores niveles terapéuticos, está asociado a mielosupresión debido a la generación de citarabina trifosfato a niveles elevados en las células de la médula ósea (1). La mielosupresión como principal efecto adverso grave hizo necesario diseñar un fármaco dirigido al hígado que no pudiese ser bioactivado en plasma y otros tejidos.

El profármaco MB07133, (Figura 9) es un profármaco HepDirect, cuya oxidación en posición bencílica también es dependiente de la estereoquímica cis, siendo el enantiómero de configuración 2R,4S- la especie bioactiva (13).

Este profármaco ha demostrado obtener niveles de AraCTP 12 veces superiores en hígado que en la médula ósea. Además, los niveles de la especie activa en hígado son 19 veces superiores a los niveles del análogo de nucleósido inactivo en plasma (13).

En 2006 se llevó a cabo un ensayo de fase I/II con el objetivo de evaluar la seguridad y farmacocinética de este profármaco. Los datos extrapolados de este ensayo muestran que dosis de hasta 1800 mg/m²/día fueron bien toleradas en pacientes con carcinoma hepatocelular inoperable. Se notificaron algunos casos de efectos adversos graves pero no se pudieron relacionar con el compuesto (14).

Posteriormente, se decidió incluir una cohorte con una dosis de 2400 mg/m²/día. Los resultados de este segundo ensayo mostraron que estas dosis también fueron bien toleradas aunque se notificaron diversos casos de toxicidad (15). A pesar de los efectos adversos notificados, la estabilización de la enfermedad producida tras la administración del profármaco MB07133 en pacientes con HCC justifica una mayor investigación en ensayos de fase II.

En 2007 la Comisión Europea otorgó a MB07133 el estatus de medicamento huérfano para el tratamiento del carcinoma hepatocelular del adulto (16).

4.3. Profármacos de fosfato y fosfonato monoéster de alcoxilquilo.

En relación a los profármacos diseñados mediante la unión del nucleótido con un lípido, estos han supuesto una mejora considerable de la biodisponibilidad oral al aprovechar los mecanismos de transporte activo de fosfolípidos en el intestino. Además, la metabolización de estos profármacos dirigida por las fosfolipasas endógenas asegura que el fármaco no pueda acumularse en el riñón evitándose las reacciones adversas asociadas a nefrotoxicidad.

El diseño de este tipo de profármacos, que son monoésteres de alcoxilalquilo, está inspirado en la molécula de lisofosfatidilcolina, un fosfolípido que forma parte de la membrana celular humana. El resto colina se reemplaza por el fármaco de manera que, el conjugado mimetiza los fosfolípidos endógenos permitiendo el transporte activo a través de la pared intestinal y aumentando el tiempo de circulación en plasma. Además, el tiempo de vida media en el interior celular es muy alto lo que permite espaciar la administración del profármaco.

Otra de las principales ventajas que presenta esta modificación es que los profármacos no son reconocidos por los mecanismos de transporte renales que favorecen la acumulación de fosfonatos nucleosídicos acíclicos en las células tubulares del riñón y carecen por tanto de nefrotoxicidad (1)(17).

Esta estrategia surgió con el objetivo de mejorar las propiedades del agente antileucémico Ara C. Este fármaco sufre una fuerte degradación por acción de la citidina desaminasa que transforma el AraC en AraU que no presenta actividad. Los ésteres de lípidos no sólo permitirían enmascarar el grupo fosfato y aumentar la lipofilia del compuesto, sino que adicionalmente permiten evitar su degradación metabólica por acción de la citidina desaminasa (18).

Debido a la semejanza estructural de estos profármacos con los fosfolípidos de membrana la bioactivación se realiza por fosfolipasas endógenas que liberan el nucleósido en su forma monofosfato (Figura 10). Actualmente se encuentran dos profármacos en desarrollo clínico: brincidofovir y CMX-157 (1).

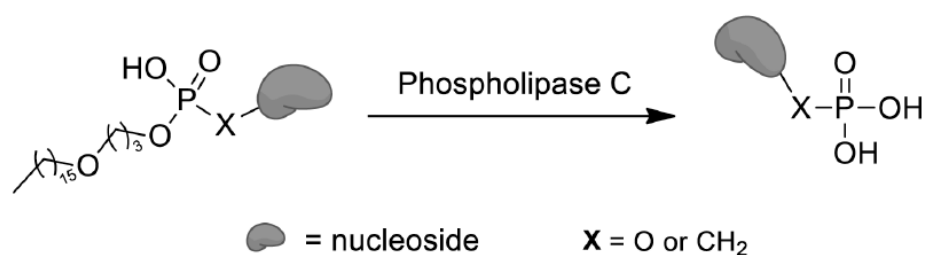


Figura 10. Mecanismo de liberación del nucleósido monofosfato/fosfonato de hexadeciloxipropilo.

Brincidofovir

El profármaco brincidofovir es el monoéster hexadeciloxipropilo (HDP), del cidofovir (1) (Figura 11).

El cidofovir es un fosfonato, análogo de nucleótido de desoxicitidina, que inhibe competitivamente la incorporación de desoxicitidina en el ADN viral, provocando la terminación del ADN vírico (1).

Es la única alternativa para controlar la adenoviremia relacionada con el trasplante de células hematopoyéticas (HCT)(19) y ha demostrado ser eficaz contra la mayoría de los virus DNA incluyendo

el virus del papiloma, poliovirus, adenovirus, poxvirus, HSV-1, HSV-2, VZV, HCMV y virus de Epstein-Barr (20). Sin embargo, presenta algunas limitaciones: es nefrotóxico y su absorción intestinal es menor al 5%, lo que impide su uso por vía oral (19)(9). El profármaco brincidofovir alcanza niveles intracelulares del metabolito activo hasta 100 veces superiores a los alcanzados por el uso de cidofovir (1)(19).

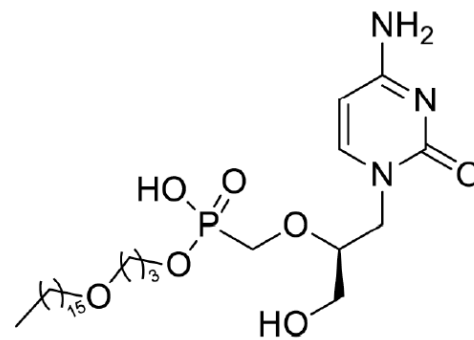


Figura 11. Estructura química de Brincidofovir.

Por otro lado, el brincidofovir no es sustrato del transportador de aniones orgánicos en los túbulos renales, esto supone una gran ventaja frente a cidofovir ya que, a diferencia de este, no genera nefrotoxicidad (19).

Estudios de distribución del brincidofovir mostraron que este se acumulaba principalmente en el intestino seguido de hígado, pulmón y riñón. Los principales efectos adversos (EAs) estarán relacionados con su acumulación en intestino, siendo el más común la diarrea, observada a dosis de >200mg a la semana (1).

Actividad de Brincidofovir en la infección por adenovirus

En un ensayo publicado en 2017 en el que se comparó la carga viral y los resultados al tratamiento con cidofovir en neonatos y pacientes pediátricos con infección adenoviral grave se mostró que el cidofovir es el único candidato disponible para el tratamiento de estos pacientes; sin embargo, se registraron casos de toxicidad aguda y una rápida progresión a insuficiencia renal tras el tratamiento con cidofovir. Cabe destacar que solo 1 de los 5 pacientes que sufrieron disfunción renal sobrevivió. (21).

En 2017 se publicó un ensayo comparativo entre cidofovir y brincidofovir en 333 pacientes sometidos a un trasplante de células madre.

Los resultados mostraron que, trece de los dieciséis pacientes tratados con brincidofovir (80%) experimentaron un aclaramiento de la viremia en un tiempo medio de cuatro semanas; mientras que, sólo ocho de los veintitrés tratados con cidofovir (35%), mostraron aclaramiento de la viremia en un tiempo medio de nueve semanas. Brincidofovir también medió aclaramiento de la viremia en 9 de 11 pacientes sin respuesta a cidofovir.

En cuanto a las reacciones adversas, se notificaron nueve casos de nefrotoxicidad leve a moderada en los pacientes tratados con cidofovir (39%). No se notificó en cambio ningún caso de nefrotoxicidad

en los pacientes tratados con brincidofovir, lo que supone una ventaja considerable (19).

A raíz de estos datos el brincidofovir obtuvo la aprobación como medicamento huérfano en la Unión Europea para el tratamiento de la infección por adenovirus en pacientes inmunocomprometidos en julio de 2017. Los ensayos clínicos para la aprobación de esta indicación siguen aún en curso (22).

Actividad de Brincidofovir en la profilaxis de la infección por citomegalovirus

El citomegalovirus cursa con una infección leve que la mayoría de las personas sufren a lo largo de su vida. Sin embargo, después de la infección, el virus queda latente y puede volver a reactivarse en situaciones inmunodeprimidas como es un trasplante de células madres, siendo en estos casos una infección debilitante a largo plazo.

Los datos de un ensayo de fase II en el que se comparó brincidofovir vs placebo como profilaxis ante la infección por CMV en pacientes que han recibido un trasplante de células hematopoyéticas concluyó que, el brincidofovir podía ser un fármaco eficaz para prevenir los eventos graves causados por CMV cuando es administrado a dosis de 100mg durante 9-11 semanas después del trasplante, en comparación con placebo (23).

A pesar de la falta de datos que avalen su eficacia, en abril de 2016, brincidofovir fue aprobado por la EMA como medicamento huérfano para el tratamiento de la infección idiopática diseminada por citomegalovirus, con el propósito de reducir la aparición de la enfermedad en pacientes sometidos a trasplante de células madre (24).

Sin embargo, recientes datos de un ensayo de fase III realizado en 452 sujetos con alto riesgo de CMV, no demostraron diferencias significativas entre los sujetos tratados con brincidofovir y a los que se le administró placebo, por lo que su actividad frente a CMV quedó cuestionada (1).

Además, Brincidofovir recibió la asignación de medicamento huérfano por la UE para una tercera indicación, el tratamiento de la infección por el virus de la viruela

A lo largo de la historia esta enfermedad provocó la muerte de un gran número de personas en todo el mundo. Gracias a la vacunación se consideró erradicada en 1980. Se aprobó en noviembre de 2016 para el tratamiento de posibles futuras infecciones debido a ataques bioterroristas o accidentes en la manipulación de virus vivos. En el momento de la asignación no había afectados por viruela en UE por lo que fue evaluado en modelos experimentales. Tampoco existía ningún tratamiento autorizado para la viruela (25).

CMX-157

El tenofovir es un análogo de adenosina empleado para el tratamiento del VIH y que presenta como principales limitaciones una mala biodisponibilidad oral que limita su eficacia y significativos efectos adversos nefrotóxicos (1). Al igual que ocurrió con el adefovir, ante las limitaciones que presentaba tenofovir se procedió a desarrollar una serie de diferentes tipos de profármacos que limiten los efectos tóxicos y que sean activos por vía oral.

Entre las diferentes estrategias empleadas y que han dado resultados más o menos satisfactorios, se empleó en terapéutica como primer profármaco bisPOC, tenofovir disoproxilo. Así, se logró mejorar la absorción intestinal. A pesar de ello aún seguían existiendo limitaciones farmacocinéticas, el nuevo profármaco sufre la degradación por esterasas inespecíficas del plasma y, como resultado, el fármaco podía acumularse en los túbulos proximales del riñón a través del transportador de aniones orgánicos provocando nefrotoxicidad.

Otra de las estrategias empleadas para mejorar estas limitaciones fue la estrategia ProTide, también conocida como tecnología fosforamidato. En este tipo de diseño el grupo fosfonato es enmascarado por un grupo arilo y grupo éster de aminoácido. El profármaco resultante, tenofovir alafenamato demostró su superioridad frente a su análogo tanto en actividad como en perfil de seguridad imponiéndose así como sucesor de tenofovir disoproxilo (1)(26).

CMX-157 es un profármaco de tenofovir con estructura de alcoxilalquil monoéster que al mimetizar la molécula de fosfatidilcolina (Figura 12), es absorbido en el intestino utilizando la vía de captación de LPC mejorando con ello la biodisponibilidad oral del fármaco y su eficacia (27). Además, CMX-157 ha demostrado tener 300 veces mayor actividad que tenofovir en varios sistemas celulares diferentes. CMX-157 fue activo contra todos los principales subtipos de VIH-1 y VIH-2 en células mononucleares de sangre periférica humana y contra todas las cepas de VIH-1 evaluadas en macrófagos derivados de monocitos (28).

Por otro lado, estudios previos realizados en animales a los que se administraron dosis de 10, 30 y 100 mg/kg/día durante 7 días, mostraron una mejora en la biodisponibilidad oral sin signos de toxicidad, ni alteraciones en el peso corporal, ni cambios en los parámetros clínicos ni mortalidad. En la necropsia las pruebas tampoco mostraron cambios en el peso de los órganos ni anomalías histopatológicas (17). Otra de las ventajas que presenta este profármaco frente a otros profármacos convencionales es que permanece intacto en plasma, mejorando la absorción en las células diana (28).

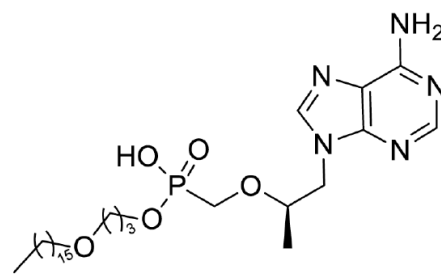


Figura 12. Estructura química del CMX-157

Todos estos datos preclínicos motivaron la inclusión de este profármaco en ensayos de fase I como posible candidato al tratamiento de VIH en cepas silvestres y en cepas resistentes a medicamentos antirretrovirales (28).

4.4. Profármacos CycloSal

Los cycloSal fosfatos y fosfonatos fueron desarrollados por C. Meier y cols. Y utilizan el alcohol salicílico como grupo enmascarador realizándose una doble esterificación de la función fosfato o fosfonato. Se genera de esta forma un compuesto neutro que puede atravesar mediante difusión pasiva la membrana celular. En el interior de la célula, gracias al pH levemente básico, se produce la escisión del enlace éster arílico, generándose un intermedio inestable de fosfato de bencilo que sufrirá una segunda escisión espontánea liberándose el nucleótido y una molécula de alcohol salicílico.

El pH ligeramente básico del interior celular provocará que el nucleótido esté cargado negativamente y quede atrapado en el medio intracelular (Figura 13) (29).

Los profármacos tipo cycloSal han sido estudiados en múltiples análogos de nucleósido/nucleótido con actividad antiviral con el objetivo de evaluar su actividad y sus posibles ventajas frente a los compuestos de partida.

Se ha observado que las sustituciones aromáticas en el anillo así como la estereoquímica del grupo fosfato afecta a la tasa de hidrólisis del compuesto y a su actividad anti-VIH. Diferentes profármacos de cycloSal han mostrado de 10 a 500 veces más actividad anti-VIH que sus análogos (30), siendo algunas de las aportaciones de este diseño las siguientes:

Los profármacos cycloSal de ddA y d4A, mostraron una actividad 100 veces superior para el primer caso, y una actividad hasta 600 veces mayor en el caso del profármaco d4A (Figura 14).

Este diseño también fue probado en el análogo de nucleósido F-ribo-ddA, que carecía de actividad antiviral. Sin embargo, su profármaco cycloSal demostró tener su actividad antiviral in vitro, siendo este el primer ejemplo de conversión de un nucleósido inactivo en un compuesto activo gracias al enfoque cycloSal (Figura 15).

Otros antivirales que también se han estudiado como profármacos cycloSal han sido aciclovir, abacavir y carbovir, dando resultados dispares. En el caso del aciclovir, se observó una pérdida de selectividad, en el abacavir se observó una mejora de la actividad y en cambio en el carbovir no se observó mejora alguna(31).

Los profármacos tipo cycloSal también han demostrado utilidad en la absorción de fosfatos de hexosas (glucosa- o manosa fosfato). Esto ha permitido estudiar nuevos inhibidores selectivos de anhidrasa carbónica como posibles fármacos antineoplásicos (Figura 14) (30).

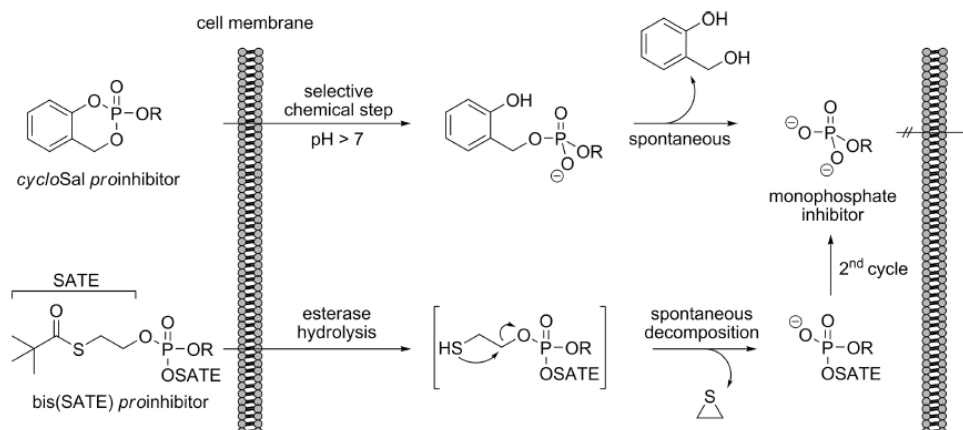


Figura 13. Mecanismo de hidrólisis intracelular de los profármacos CycloSal y SATE.

4.5. Profármacos SATE

En esta estrategia se emplea una molécula de S-ácil-2-tioetil como grupo enmascarador de fosfato. La primera hidrólisis del grupo tioéster es llevada a cabo por esterases generándose un intermedio inestable de fosfato de tioetil, el cual se descompone espontáneamente mediante un mecanismo de desplazamiento nucleofílico intramolecular. Tras esta descomposición se libera una molécula de sulfuro de etileno y el correspondiente fosfodiéster. Al igual que en los profármacos CycloSal, el grupo monofosfato quedará cargado negativamente y, con ello, el fármaco quedará atrapado intracelularmente (Figura 13) (29).

Al igual que en el caso anterior, esta estrategia de profármaco SATE se puede aplicar tanto a nucleótidos como fosfatos de hexosas. En la figura 14 se recogen algunos ejemplos de inhibidores de anhidrasa carbónica.

Es de destacar que en este tipo de profármacos la toxicidad y la posible actividad mutagénica del sulfuro de etileno liberado durante la bioactivación limita las posibles aplicaciones terapéuticas (30).

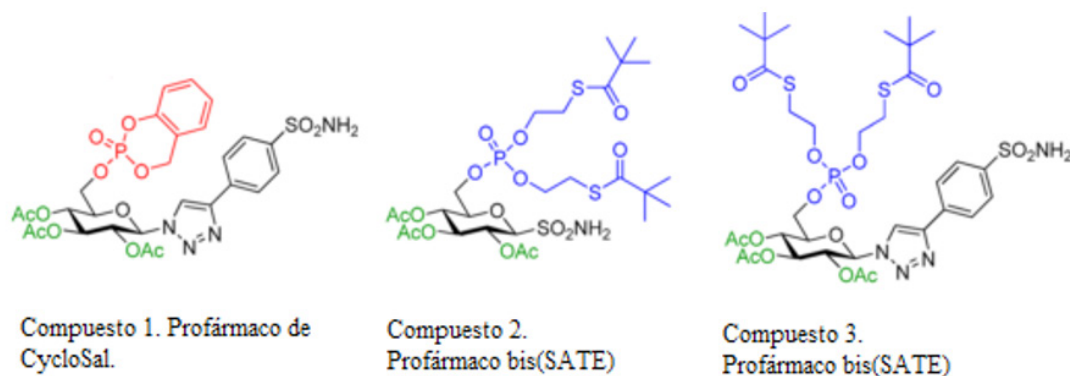


Figura 14. Profármacos CycloSal y bis(SATE) basados en la modificación de inhibidores de la anhidrasa carbónica.

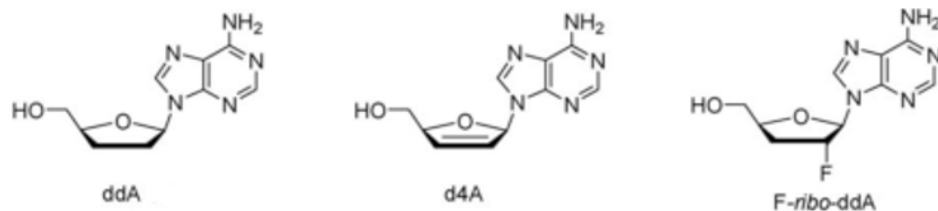


Figura 15. Algunos antivirales empleados como precursores de profármacos de CycloSal.

5. CONCLUSIONES

Los profármacos de nucleótidos representan una herramienta prometedora para mejorar la actividad de los análogos de nucleósido (o nucleótido) en la terapia antiviral y antineoplásica. En los últimos años muchas han sido las estrategias desarrolladas con éxito en la búsqueda de nuevos diseños de profármacos. Dentro de las descritas en esta revisión bibliográfica podríamos decir que la estrategia HepDirect, los conjugados con lípidos y los profármacos bisPOC y bisPOM han dado los resultados más prometedores.

Los resultados de los diferentes ensayos clínicos a los que son sometidos los diferentes profármacos muestran que, en general, el desarrollo de este tipo de profármacos trae consigo mejoras en la biodisponibilidad oral que permiten disminuciones de dosis y, en consecuencia, mejoras en el perfil de seguridad.

La introducción de cadenas de alcoxilalquilo, como sucede en el profármaco brincidofovir supone un avance considerable en la mejora de la absorción intestinal ya que este, a diferencia de su precursor, puede ser administrado oralmente. La excelente absorción conseguida debido a su analogía con los fosfolípidos le consolida como una estrategia muy importante en el desarrollo de terapias orales.

Por otro lado, los profármacos bisPOC y bisPOM se impusieron desde hace años como una de las herramientas más prometedoras en el diseño de profármacos de nucleótidos, mejorando la biodisponibilidad de sus precursores.

Los profármacos tipo HepDirect presentan como principal ventaja su bioactivación selectiva en el lugar de acción, el hígado, mejorando notablemente su eficacia y seguridad. Dentro de esta estrategia, el profármaco pradefovir se encuentra actualmente muy bien posicionado como una buena alternativa a su precursor adefovir.

A pesar de estos prometedores resultados, son necesarios más ensayos clínicos que evidencien su superioridad frente a sus precursores.

6. BIBLIOGRAFÍA

1. Thornton PJ, Kadri H, Miccoli A, Mehellou Y. Nucleoside Phosphate and Phosphonate Prodrug Clinical Candidates. *J Med Chem.* 2016;46(Suppl.1(S159):10400-10.
2. Andrea Varga, Corinne Lionne BR. Intracellular Metabolism of Nucleoside/Nucleotide Analogues: a Bottleneck to Reach Active Drugs on HIV Reverse Transcriptase. *Curr Drug Metab.* 2016;17(3).
3. Peterson LW, McKenna CE. Prodrug approaches to improving the oral absorption of antiviral nucleotide analogues. *Expert Opin Drug Deliv [Internet].* 2009;6(4):405-20. Disponible en: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1517/17425240902824808>.
4. Yuen MF, Lee SH, Kang HM, Chung RK, Kim J, Ngai V, et al. Pharmacokinetics of LB80331 and LB80317 following oral administration of LB80380, a new antiviral agent for chronic hepatitis B (CHB), in healthy adult subjects, CHB patients, and mice. *Journal of Hepatology.* 2007;53(5):1779-85.
5. Min, C. H., C. R. Kim, K. Steffy, D. Averett, S. Locarnini and TS. Pharmacokinetics of LB80331 and LB80317 following oral administration of LB80380, a new antiviral agent for chronic hepatitis B (CHB), in healthy adult subjects, CHB patients, and mice. *Journal of Hepatology.* 2009;53(5):1779-85.
6. Lai CL, Ahn SH, Lee KS, Um SH, Cho M, Yoon SK, et al. Phase IIb multicentred randomised trial of besifovir (LB80380) versus entecavir in Asian patients with chronic hepatitis B. *Gut.* 2014;63(6):996-1004.
7. Ding Y, Zhang H, Li X, Li C, Chen G, Chen H, et al. Safety, pharmacokinetics and pharmacogenetics of a single ascending dose of pradefovir, a novel liver-targeting, anti-hepatitis B virus drug, in healthy Chinese subjects. *Hepatol Int.* 2017;11(4):390-400.
8. Reddy KR, Matelich MC, Ugarkar BG, Gómez-Galeno JE, DaRe J, Ollis K, et al. Pradefovir: A prodrug that targets adefovir to the liver for the treatment of hepatitis B. *Journal of Medical Chemistry.* 2008;51(3):666-76.
9. Li F, Maag H, Alfredson T. Prodrugs of Nucleoside Analogues for Improved Oral Absorption and Tissue Targeting. *Journal of Pharmaceutical Science.* 2007;3(2):26-33.
10. Xiao Q, Wang D, Yang W, Chen L, Ding Y, Yang J. Simultaneous determination of pradefovir, PMEA and tenofovir in HBV patient serum using liquid chromatography-tandem mass spectrometry and application to phase 2 clinical trial. *J Chromatogr B Anal Technol Biomed Life Sci [Internet].* 2016;1022:133-40. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jchromb.2016.04.019>.
11. K.S. Lee, S.G. Lim, W.L. Chuang, S.G. Hwang, M. Cho, M.Y. Lai, Y.C. Chao, T.T. Chang, K.H. Han, C.M. Lee, S.H. Um, J.E. Yeon, S.S. Yang, E.K. Teo, C.Y. Peng, H.H. Lin, T.I. Huo, T. Nguyen, T.Y. Chen, K.Q. Hu, Y. Xu, J.Z. Sullivan-Bólyai. Safety, tolerability and antiviral activity of pradefovir mesylate in patients with chronic hepatitis B virus infection: 48-week analysis of a phase 2 study 274. *Journal of Hepatology.*
12. Wang D, Xiao Q, Yang W, Qian W, Yang J. HPLC-MS/MS method for the simultaneous determination of MB07133 and its metabolites, cytarabine and arabinofuranosyluracil, in rat plasma. *J Pharm Biomed Anal [Internet].* 2016;120:228-34. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpba.2015.12.049>

13. Boyer SH, Sun Z, Jiang H, Esterbrook J, Gómez-Galeno JE, Craig W, et al. Synthesis and characterization of a novel liver-targeted prodrug of cytosine-1-beta-D-arabinofuranoside monophosphate for the treatment of hepatocellular carcinoma. *Journal of Medicinal Chemistry* [Internet]. 2006;49:7712-4. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17181153>
14. Ma, B.; Forbes, W.; Venook, A. P.; Bissell, D. M.; Peterson, C.; Niculae, I.; Bullough DA. A Phase I/II Study to Assess the Safety, Tolerability and Pharmacokinetics (PK) of Intravenous (IV) Infusion of MB07133 in Subjects with Unresectable Hepatocellular Carcinoma (HCC). *Journal of Clinical Oncology*. 2006;24:2054.
15. Imagawa, D.; Ma, B.; Venook, A.; Bissell, M.; Peterson, C.; Erion, M.; Niculae, I.; Jensen, J.; Bullough, D.; Foyt H. (2007) A Phase I/II Study to Assess the Safety, Tolerability and Pharmacokinetics (PK) of Intravenous (IV) Infusion of MB07133 in Subjects with Unresectable Hepatocellular Carcinoma (HCC). *Cancer Res*. 2007;67:2649.
16. Public summary of opinion on orphan designation: 4-Amino-1-[5-O-[(2R,4S)-2-oxido-4-(4-pyridinyl)-1,3,2-dioxaphosphorinan-2-yl]-β-D-arabinofuranosyl]-2(1H)-pyrimidinone for the treatment of hepatocellular carcinoma. Committee for Orphan Medicinal Products. European Medicine Agency. 2007.
17. Hostetler KY. Alkoxyalkyl prodrugs of acyclic nucleoside phosphonates enhance oral antiviral activity and reduce toxicity : Current state of the art. 2009;82:84-98.
18. Hecker SJ, Erion MD. Perspectives on Prodrugs of Phosphates and Phosphonates. 2008;2328-45.
19. Hiwarkar P, Amrolia P, Sivaprakasam P, Lum SH, Doss H, O'Rafferty C, et al. Brincidofovir is highly efficacious in controlling adenoviremia in pediatric recipients of hematopoietic cell transplant. *Blood* by American Society Hematology. 2017;129(14):2033-7.
20. Seley-radtke KL, Yates MK. The evolution of nucleoside analogue antivirals : A review for chemists and non-chemists . Part 1 : Early structural modifications to the nucleoside scaffold. *Antiviral Res* [Internet]. 2018;154(January):66-86. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2018.04.004>
21. Vora SB, Brothers AW, Englund JA. Renal toxicity in pediatric patients receiving Cidofovir for the treatment of adenovirus infection. *Journal of the Pediatric Infectious Disease Society*. 2017;6(4):399-402.
22. Public summary of opinion on orphan designation: Brincidofovir for the treatment of adenovirus infection in immunocompromised patients. Committee for Orphan Medicinal Products. European Medicine Agency. 2016.
23. Lanier, E. R.; Foster, S.; Brundage, T.; Chou, S.; Prichard M, N.; Kleiboeker, S.; Wilson, C.; Colville, D.; Mommeja-Marin H. Analysis of Mutations in the Gene Encoding Cytomegalovirus DNA Polymerase in a Phase 2 Clinical Trial of Brincidofovir Prophylaxis. *J Infect Dis*. 2016;(214):32-5.
24. Public summary of opinion on orphan designation: Brincidofovir for the prevention of cytomegalovirus disease. Committee for Orphan Medicinal Products. European Medicine Agency. 2016.
25. Public summary of opinion on orphan designation: Brincidofovir for the treatment of smallpox [Internet]. Committee for Orphan Medicinal Products. European Medicine Agency. 2016. Disponible en: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Orphan_designation/2013/11/WC500156187.pdf

26. De Clercq E. Role of tenofovir alafenamide (TAF) in the treatment and prophylaxis of HIV and HBV infections. *Biochemical Pharmacology* [Internet]. 2018;153(November):2-11. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2017.11.023>
27. Hurwitz SJ, Schinazi RF. Practical considerations for developing nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *Drug Discov Today Technol* [Internet]. 2012;9(3):e183-93. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ddtec.2012.09.003>
28. Hiv NN, Lanier ER, Ptak RG, Lampert BM, Keilholz L, Hartman T, et al. Development of Hexadecyloxypropyl Tenofovir (CMX157) for Treatment of Infection Caused by Wild-Type and Downloaded from <http://aac.asm.org/> on August 10 , 2012 by North Carolina State University Libraries Development of Hexadecyloxypropyl Tenofovir. 2010.
29. Rankin GM, Vullo D, Supuran CT, Poulsen SA. Phosphate Chemical Probes Designed for Location Specific Inhibition of Intracellular Carbonic Anhydrases. *Journal of medicinal Chemistry*.2015;58(18):7580-90.
30. Mackman RL, Cihlar T. Prodrug Strategies in the Design of Nucleoside and Nucleotide Antiviral Therapeutics. *Annu Rep Med Chem*. 2004;39(04):305-21.
31. Meier C, Balzarini J. Application of the cycloSal-prodrug approach for improving the biological potential of phosphorylated biomolecules. *Antiviral Research*. 2006;71(2-3 SPEC. ISS.):282-92.