

FÁRMACOS INHIBIDORES DE PROTEASAS VIRALES. OPTIMIZACIÓN DE SU RELACIÓN ESTRUCTURA-ACTIVIDAD

Autor: Miguel Fernández García ; Tutor: José Ángel Otero

Universidad Complutense de Madrid, Avenida de Sénea 2, 28040 Madrid, España



INTRODUCCIÓN

Las proteasas virales son enzimas responsables de la maduración de poliproteínas procedentes de la traducción del RNAm de algunos virus. Fármacos inhibidores de estas proteasas (IP) son eficaces en el tratamiento de algunas patologías víricas, destacando en VIH y HCV. Estos fármacos deben mostrar un buen perfil de seguridad y eficacia. En el desarrollo de IP intervienen distintas aproximaciones tales como cristalografía, RMN, bioinformática, diseño de análogos, cribado sistemático de quimiotecas, proteómica, genómica, etc. Existen distintos tipos de IP con distintos mecanismos de acción: inhibición del centro activo (la mayoría de IP) e inhibición alostérica. El centro activo de las proteasas posee distintos "pliegues" (denominados S y S'), que interactúan con ciertos grupos funcionales de las poliproteínas (P y P'). IP dirigidos al centro activo han de interactuar específicamente con estos pliegues.

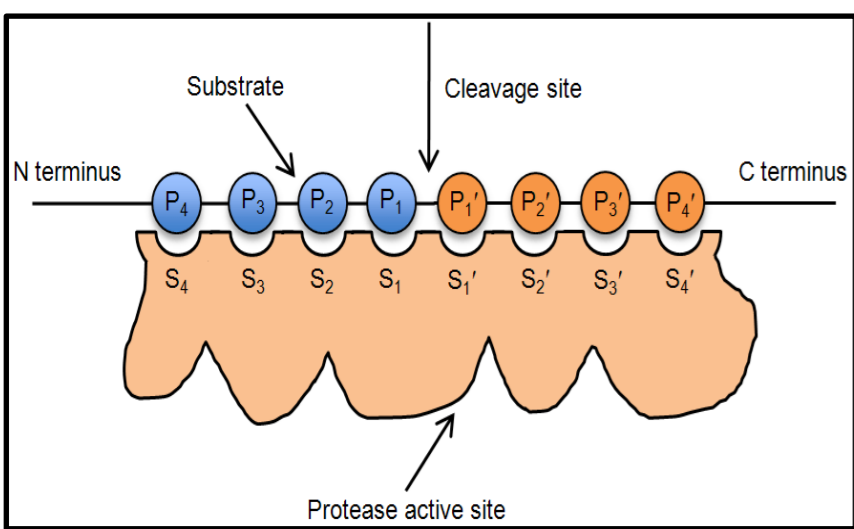


Fig. 1: centro activo de una proteasa

Selección de IP candidatos: Al evaluar la actividad de distintos compuestos, se obtienen "hits" o compuestos activos. Aquellos con propiedades más interesantes (cabezas de serie) son modificados químicamente para dar lugar a fármacos comercializables

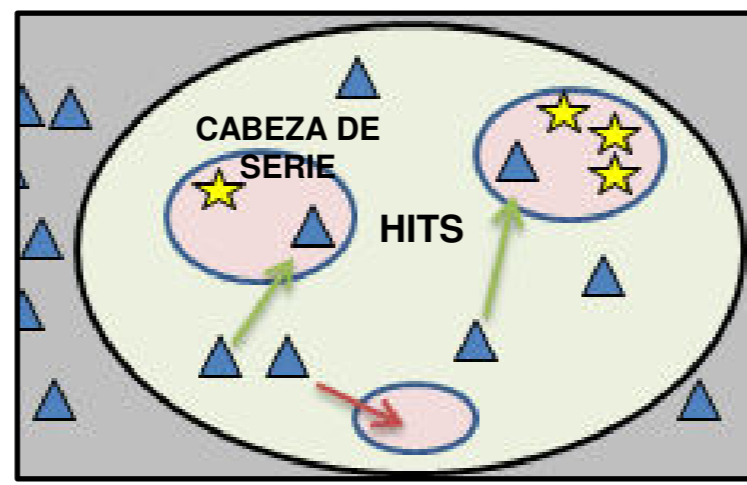


Fig. 2: esquema de selección de IP candidatos: compuestos (azul), candidatos (amarillo)

OBJETIVOS

- Identificar aspectos relevantes sobre IP y distintas modificaciones químicas realizadas en su desarrollo.
- Resumir información sobre líneas de investigación relacionadas con IP
- Ahorrar tiempo y esfuerzo en la lectura de documentos primarios
- Contribuir a superar las barreras idiomáticas
- Sugerir aspectos o temas de investigación

METODOLOGÍA

Bases de datos:

- Pubmed
- Google Académico
- BUCM
- Otras

Términos:

- HCV HIV
- Protease inhibitors
- binding, SAR
- crystallography

Selección y Validación:

- Revisiones y artículos sobre IP y proteasas virales
- referenciados y publicados

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La proteasa NS3/4A del VHC

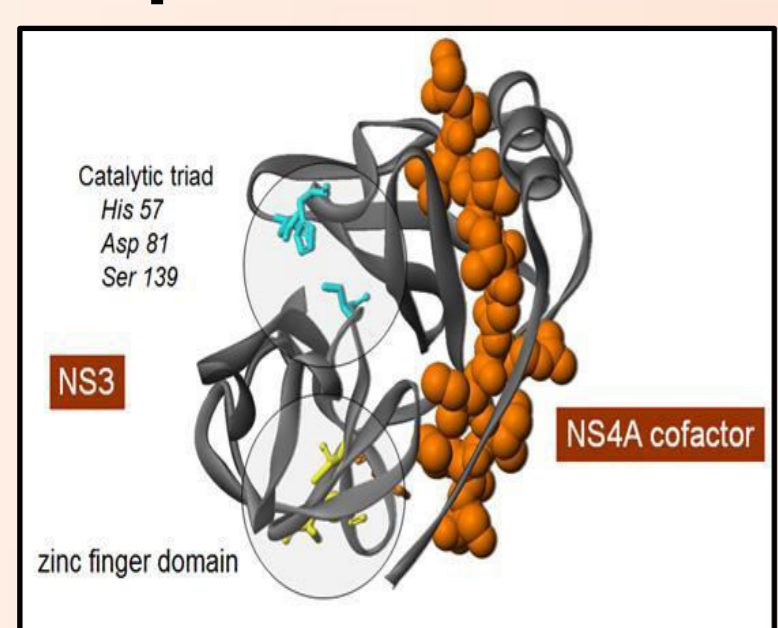


Fig. 3: estructura de NS3/4A

- NS3 posee dos dominios: proteasa y helicasa
- NS3 presenta dos cofactores: NS4A y Zn, necesarios para su actividad y conformación, respectivamente
- Pertenece a la subfamilia de las serín proteasas
- En su mecanismo de acción intervienen His57, Asp81 y Ser139. Ser139 se une covalentemente al C=O del enlace peptídico a hidrolizar. Asp81 y His57 regeneran Ser139 a su estado original, produciéndose la hidrólisis
- Los pliegues de su centro activo son altamente hidrofóbicos

IP comercializados: Están dirigidos al centro activo

Peptidomiméticos: Secuencia consenso Asp/Glu-X-X-X-Ser/Cys↓Ser/Ala

α-cetoamidas

- Unión covalente con Ser139, reversible
- Residuos hidrofóbicos en P y P'

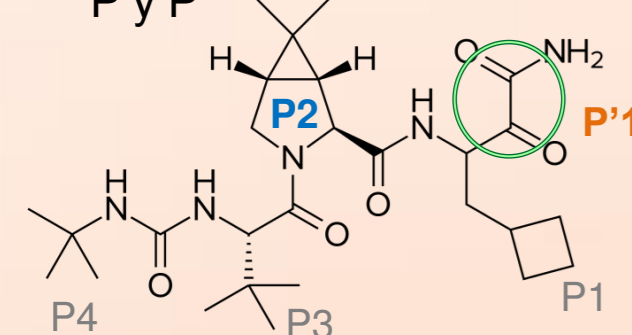


Fig. 4: Boceprevir (2011, EC50=0,52μM)

- Amida en P1 que sustituye a COOH (PK desfavorable)
- Derivado de Pro en P2

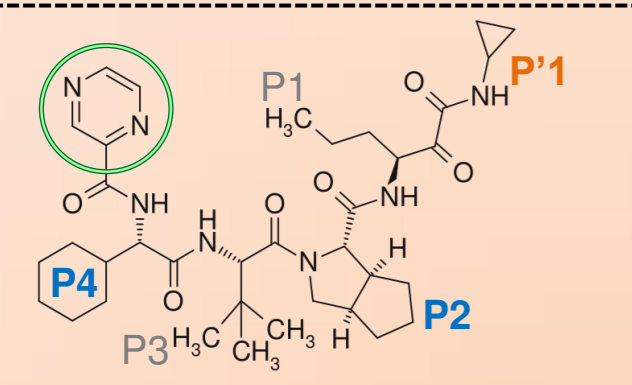


Fig. 5: Telaprevir (2011, EC50=0,06μM)

- Interacciones adicionales
- Biciclo en P2
- Amida 2ª en P1 (ciclopropilo)
- N-Capping en P4

IP macrocíclicos

- Análogos de productos de hidrólisis
- Reducción a 3 residuos por inclusión de ác. (1R,2S)-1-amino-2-vinilciclopropanocarboxílico
- Ciclación entre P1 y P3 (restricción conformacional)
- Grupo ciclopropilsulfonamido en P1
- Grupos aromáticos como sustituyentes en P2

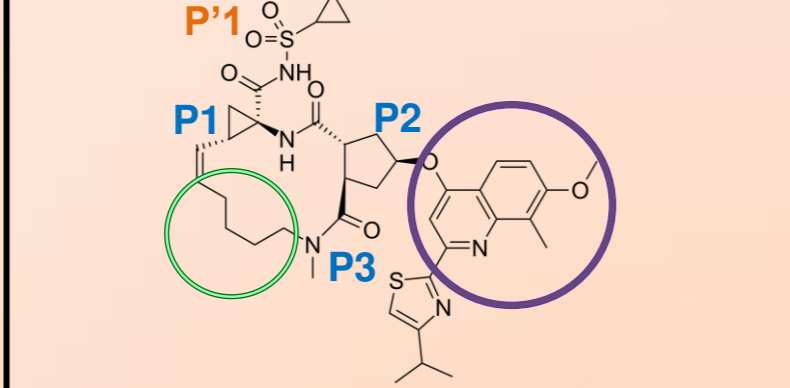


Fig. 6: Simeprevir (2013, EC50=0,06μM)

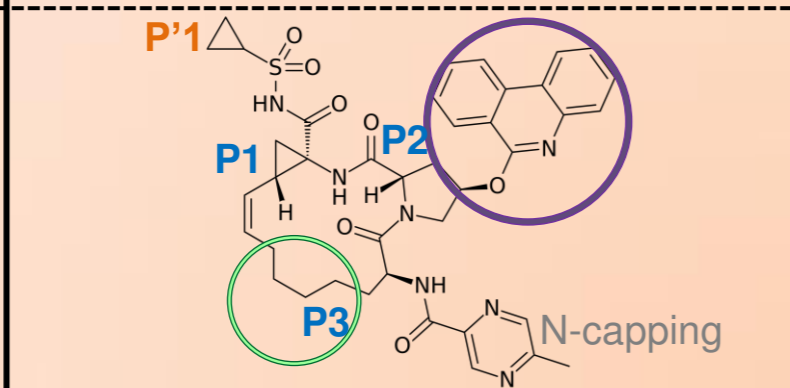


Fig. 7: Paritaprevir (2013, EC50=0,06μM)

Líneas de investigación

A) IP macrocíclicos

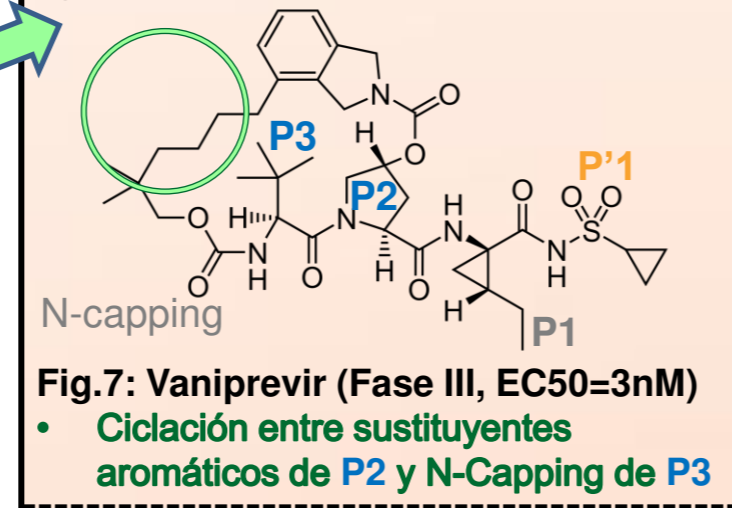


Fig. 7: Vaniprevir (Fase III, EC50=3nM)

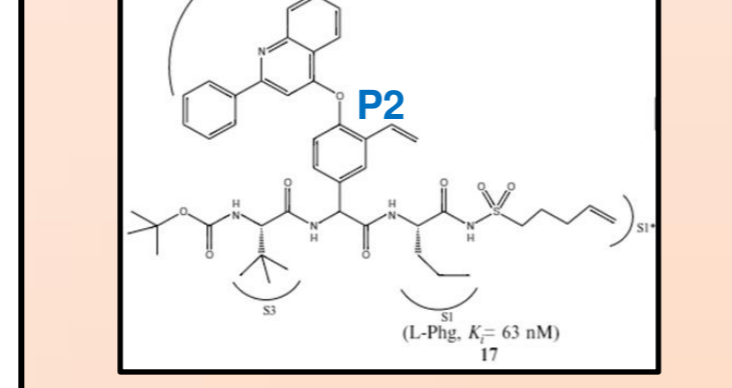


Fig. 8: compuestos con m-vinilfenilglicina en P2 poseen bajas constantes inhibitorias (nM)

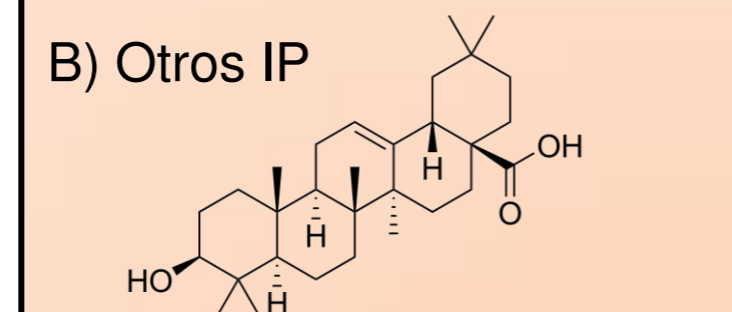


Fig. 9: ácido oleanónico

• Ésteres del ác. oleanónico inhiben NS3/4A

• Mecanismo de acción desconocido

• EC50 en el bajo milimolar para un dímero de ác oleanónico

B) Otros IP

La proteasa del VIH-1

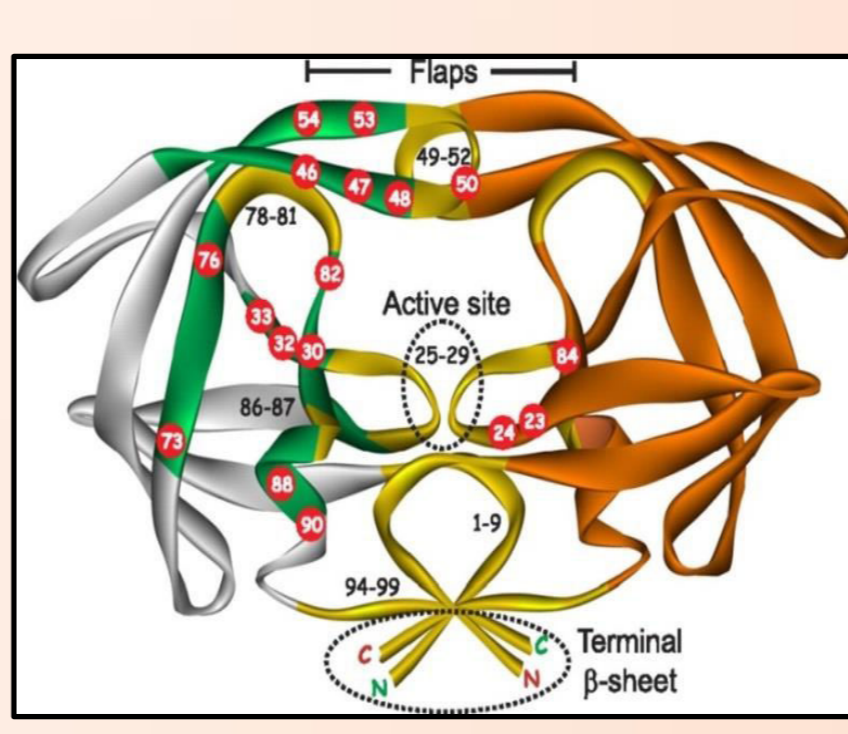


Fig. 10: estructura de HIV-1pr

- La proteasa del VIH-1 (HIV-1pr) es un homodímero
- Pertenece a la subfamilia de las aspartato proteasas
- Existen tres zonas de interacción entre monómeros: "solapas", centro activo, y laminas β C y N terminales
- En su mecanismo de acción intervienen Asp25 y Asp25'. Uno de ellos se encuentra coordinado con una molécula de H2O que ataca al enlace peptídico, produciendo su hidrólisis
- Los pliegues de su centro activo son altamente simétricos
- Ile50 e Ile50' (ubicadas en las solapas) se encuentran coordinadas con una molécula de H2O, a su vez coordinada con C=O de P1 y P1'

IP Comercializados dirigidos al centro activo

A) Peptidomiméticos

Poseen OH cuaternario que simula molécula de agua, mimetizando el estado de transición

Desarrollo:

- No existe secuencia consenso
- Sin embargo, generalmente Phe en P1 y P2.
- Impiden hidrólisis mediante sustituyentes hidroxetilamina, hidroxietileno o aza-dipéptido

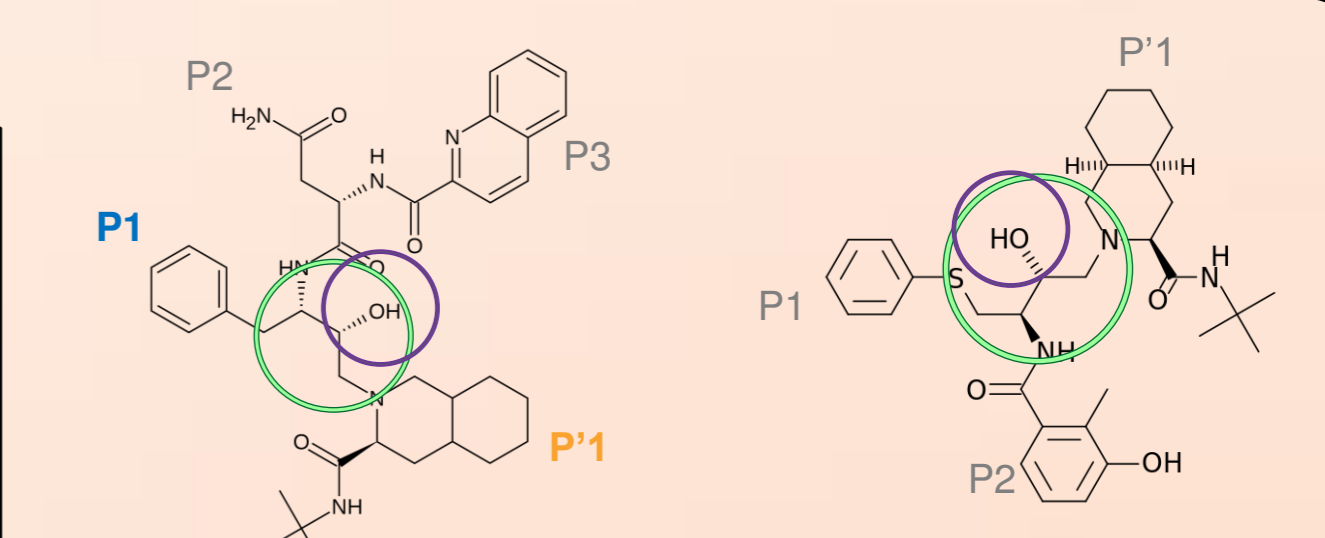


Fig. 11: saquinavir (SQV, 1995, EC50=37,7nM)

Fig. 12: nelfinavir (NFV, 1997, EC50=5,5nM)

- Derivado de hidroxetilamina
- Phe en P1
- Derivado de Pro en P1 (DIQ)
- Derivado de hidroxietileno
- Grupo DIQ en P1
- S-fenilo en P1

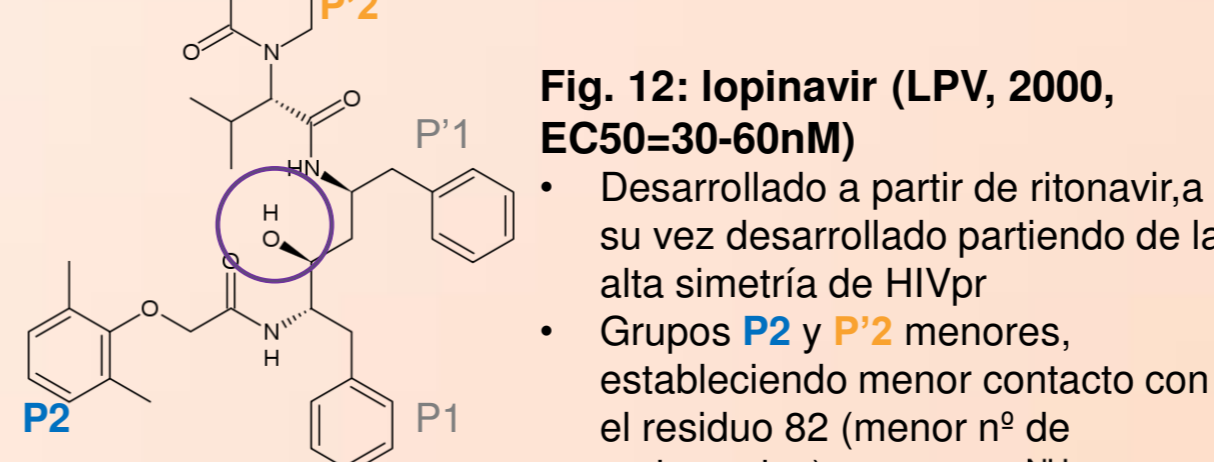


Fig. 12: lopinavir (LPV, 2000, EC50=30-60nM)

- Desarrollado a partir de ritonavir, a su vez desarrollado partiendo de la alta simetría de HIVpr
- Grupos P2 y P2' menores, estableciendo menor contacto con el residuo 82 (menor nº de resistencias)

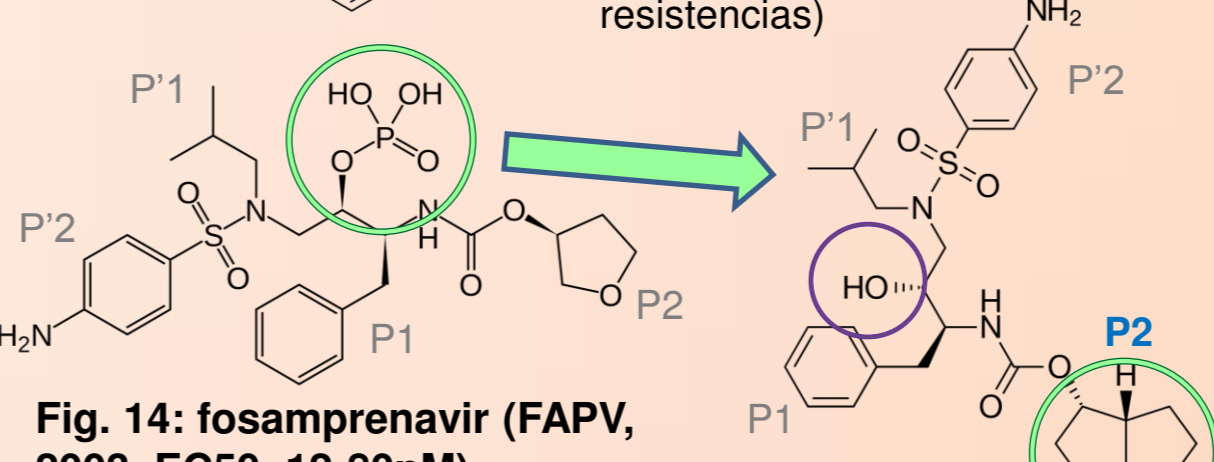


Fig. 14: fosamprenavir (FAPV, 2003, EC50=12-80nM)

- Profármaco de APV, aumento de la semivida plasmática
- APV reduce su Pm, mejorando sus propiedades farmacocinéticas
- APV reduce interacciones, reduciendo el desarrollo de resistencias

Fig. 15: darunavir (DRV, 2006, EC50=1-2nM)

- Estructura similar a amprenavir
- Potencia aumentada por Bis-THF, (nueva interacción) con Asp30

B) no peptidomiméticos

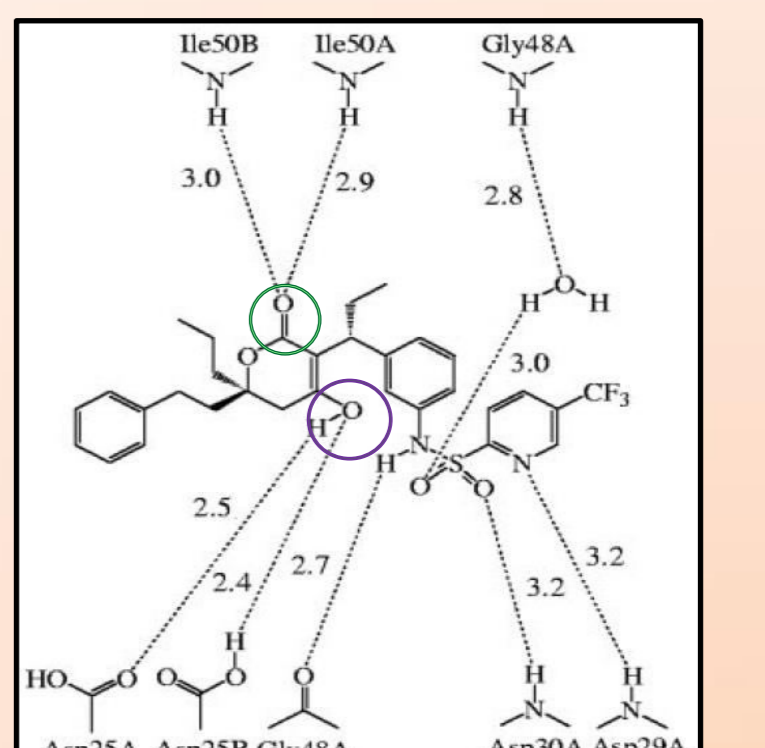


Fig. 17: tipranavir (TPV, 2005, EC50=30-50nM)

- Derivado de 4-hidroxycumarina
- Descubierto por screening sistemático
- C=O lactónico sustituye al H2O coordinado con Ile50/50'
- Perfil distinto de resistencias

Líneas de investigación

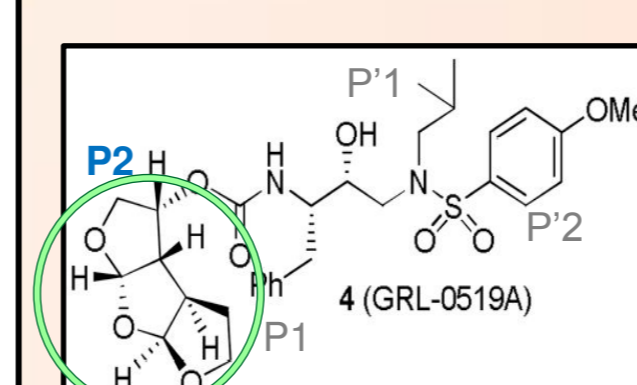


Fig. 18: GRL-0519 A

- Basado en darunavir
- Triciclo de THF en P2
- Interacciones adicionales

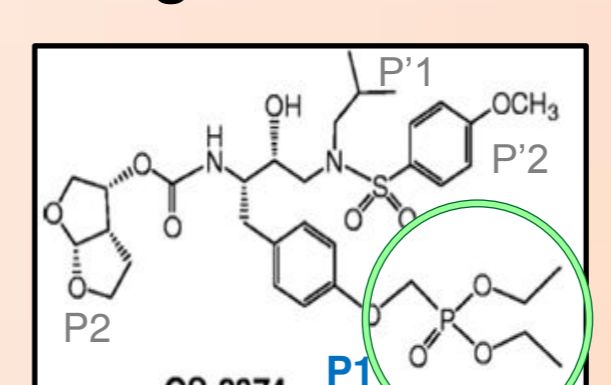


Fig. 19: GS-8374

- Basado en darunavir
- Grupo P1 con dietilfosfonato
- No favorece dislipidemia, efecto 2º común con otros IP

Otros inhibidores

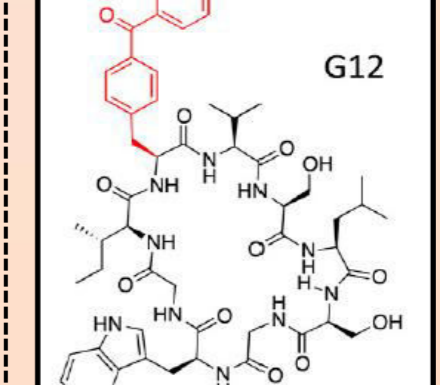


Fig. 20: G12

- Inhibidor macrocíclico
- Interactúa con Lys14
- Mediante residuo de p-benzoifenilalanina

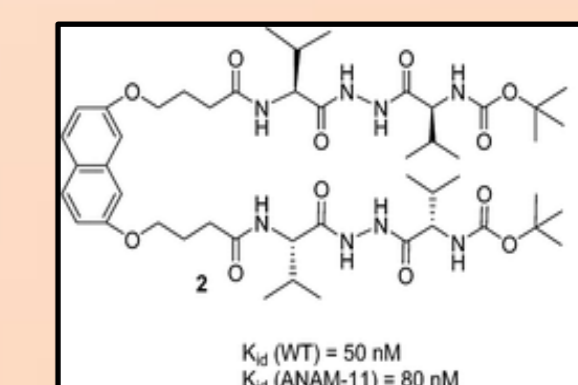


Fig. 21: "molecular tong"

- Inhibidor de la dimerización de HIVpr
- Peptidomimético dirigido a los extremos N y C terminales

CONCLUSIONES

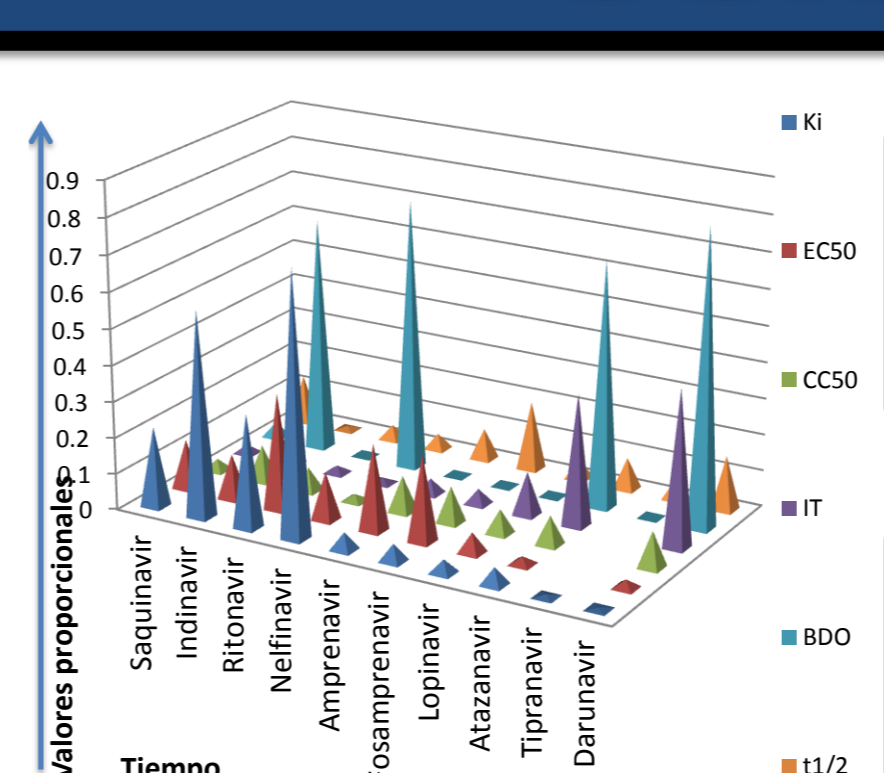


Fig. 22: gráfico comparativo IP anti HIV

- Nuevas generaciones de fármacos buscan:**
- Nuevas dianas terapéuticas
 - Aumento de efectividad
 - Disminución de toxicidad
 - Aumento de índice terapéutico
 - Superación de barreras farmacocinéticas (vía admn y posología)
 - Menor desarrollo de resistencias

- Como modificaciones químicas utilizadas para ello, destacan:**
- Sustituciones por bioisómeros (recurso muy frecuente)
 - Restricción conformacional (IP macrocíclicos NS3/4A)
 - Interacciones con aminoácidos esenciales para actividad (APV)
 - Reducción de Pm (APV)
 - Modificación a profármacos (FAPV)
 - Reducción de interacciones con aa involucrados en resistencias (LPV)
 - Utilización de grupos disminuyendo toxicidad (P1 en GS-8374)

BIBLIOGRAFÍA

- Chakraborti S, Dhalla NS. *Proteases in Health and Disease - Advances in Biochemistry in Health and Disease*. New York, US: Springer, 2013. 403p
- Lebon F, Ledeq M. *Approaches to the Design of Effective HIV-1 Protease Inhibitors*. *Current Medicinal Chemistry* 2000;7:455-477.
- Anderson J, Schiffer CA, Lee SK, and Swanstrom RI [Internet]. "Viral protease inhibitors" *Handbook of experimental pharmacology*. 2008; 188 [citado el 14 de Jun. de 2015]
- Alterman M. *Design and Synthesis of HIV-1 Protease Inhibitors* [Dissertation for the Degree of Doctor of Philosophy (Faculty of Pharmacy) in Organic Pharmaceutical Chemistry]. Uppsala, Sweden: Lindbergs Grafiska HB; 2001.
- Salam KA, Akimitsu N. *Hepatitis C virus NS3 inhibitors: current and future perspectives*. *Biomed Res Int* 2013; 2013:467879
- Edx courses. Davidson [Internet]. *Medicinal Chemistry: The Molecular Basis of Drug Discovery* [citado el 14 de Jun. de 2015] disponible desde: <https://www.edx.org/course/medicinal-chemistry-molecular-basis-drug-discovery-d001x>