



# EPOTILONAS, UNA ALTERNATIVA EN EL CAMPO DE LOS ANTITUMORALES

María Molinero Muñoz y Nerea Fernández Arberas

Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid.

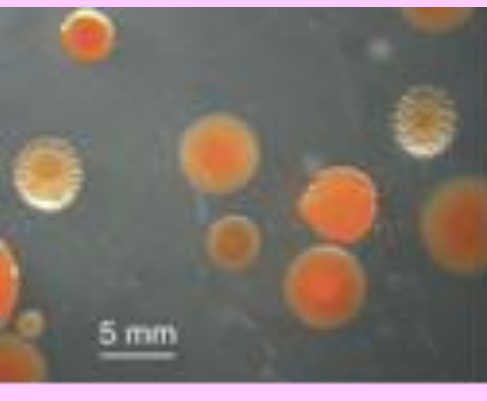
Trabajo Fin de Grado: 2015/2016

## INTRODUCCIÓN

Las epotilonas A (Epo A) y B (Epo B) son compuestos naturales aislados por primera vez a partir de la bacteria *Sorangium cellulosum* en las orillas del río Zambesi (Suráfrica). Fueron descubiertos en 1987 por los investigadores Höfle, Reichenbach y col. en Alemania, evaluándose en un primer momento como fungicidas frente a *Mucor hiemalis*.<sup>1</sup> En 1995 investigadores de los laboratorios Merck observaron que poseía actividad antitumoral. Las primeras síntesis totales fueron publicadas a principios de 1997 por los grupos de Danishefsky, Nicolaou y Schinzer.

Dado que las síntesis totales poseían un rendimiento cercano al 1%, se clonó el cluster de genes responsable de la biosíntesis de las Epo A y B y se coexpresó junto con los genes de *Streptomyces coelicolor* (fermentación bacteriana).

Las epotilonas muestran una actividad antitumoral elevada en células resistentes a fármacos. A día de hoy la ixabepilona está aprobada por la FDA con el nombre de Ixempra®, y otras se encuentran en distintas fases de ensayos clínicos.



Colonias de *S. cellulosum*

## OBJETIVOS

- Describir la estructura química de las epotilonas
- Analizar el mecanismo de acción de las epotilonas estableciendo relaciones con el del paclitaxel (PTX).
- Describir las primeras estrategias de síntesis química total de las epotilonas.
- Estudiar las modificaciones estructurales que suponen una variación de la actividad antitumoral.
- Examinar la situación actual de los ensayos clínicos de las epotilonas y conocer las indicaciones terapéuticas.

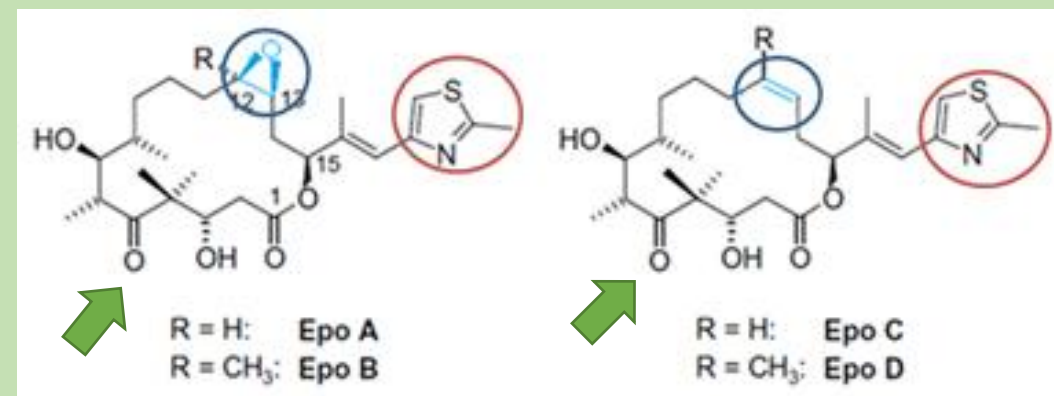
## METODOLOGÍA

Se han realizado búsquedas bibliográficas en bases de datos como PubMed combinando las palabras clave "epothilone", "clinical trial", "paclitaxel", "Alzheimer", "glicoproteína P", "metathesis", "antitumoral" entre otras.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

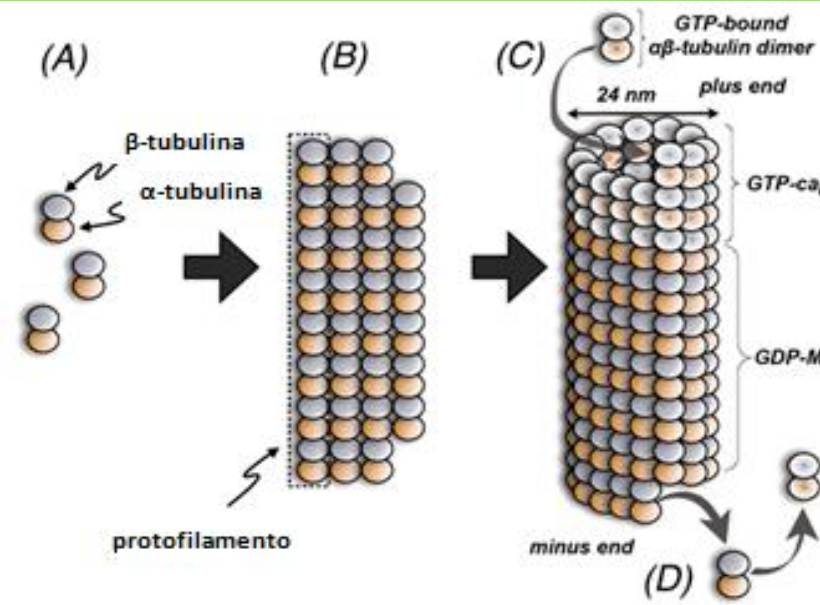
### ESTRUCTURA QUÍMICA

Macrolactonas de 16 átomos compuestas por un epóxido, un tiazol y una cetona. Las deoxiepotilonas C y D son análogos de las epotilonas naturales que incorporan un doble enlace en Z entre C12 y C13 en lugar del epóxido.



### MECANISMO DE ACCIÓN

Su actividad citotóxica se basa en la estabilización de microtúbulos, la inducción de la polimerización de la tubulina por unión específica a la subunidad β del dímero αβ de dicha proteína y la inhibición de la despolimerización inducida por calcio. Todo ello conduce a la parada del ciclo celular en la fase G<sub>2</sub>/M y posterior apoptosis de la célula.<sup>2</sup>

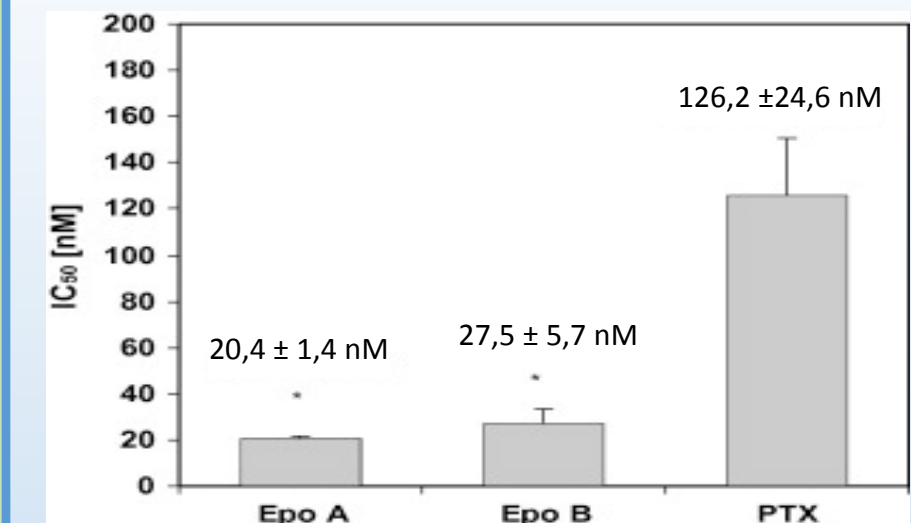


### ANALOGÍAS Y DIFERENCIAS CON EL PACLITAXEL (PTX)<sup>2</sup>

Las epotilonas comparten el mismo mecanismo de acción que PTX. Sin embargo éstas ofrecen algunas ventajas:

- **Son solubles en agua:** facilita su formulación

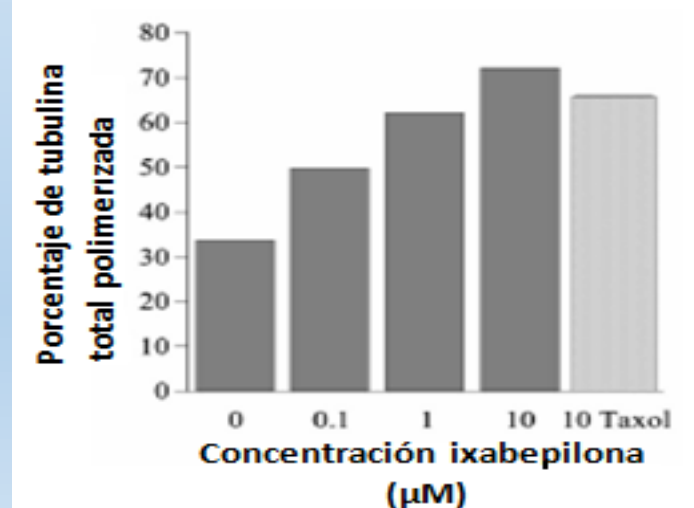
- **Tienen mayor potencia antiproliferativa**



Tras 72 horas de incubación con Epo A, Epo B y PTX se midió la IC<sub>50</sub>.

Ensayo *in vitro* en el cual durante 90 minutos se expone tubulina cerebral bovina purificada en presencia de PTX y de ixabepilona a diferentes concentraciones y a 30°C. Se analiza el sedimento de tubulina polimerizada.

- ✓ ↑ [ixabepilona] → ↑ % de tubulina polimerizada
- ✓ [ixabepilona] = [PTX] → % de polimerización es mayor en el primer caso
- ✓ [ixabepilona] = 10 [PTX] → % de polimerización es prácticamente el mismo.



- **Menor presencia de efectos adversos que el PTX**

- **Son activos en células resistentes a fármacos antitumorales:** esta resistencia se produce por dos causas:

- 1. Sobreexpresión de la glicoproteína P (gp-1):** las epotilonas son pobres sustratos de esta proteína implicada en el bombeo del fármaco al medio extracelular.<sup>3</sup>

Ensayo con células de riñón caninas transfectadas con gp-1 humana.

Compuesto	P <sub>app</sub> (A-B) (10 <sup>-6</sup> cm/s)	P <sub>app</sub> (B-A) (10 <sup>-6</sup> cm/s)	Relación de eflujo (B-A)/(A-B)
CNDR-66	30	46,5	1,6

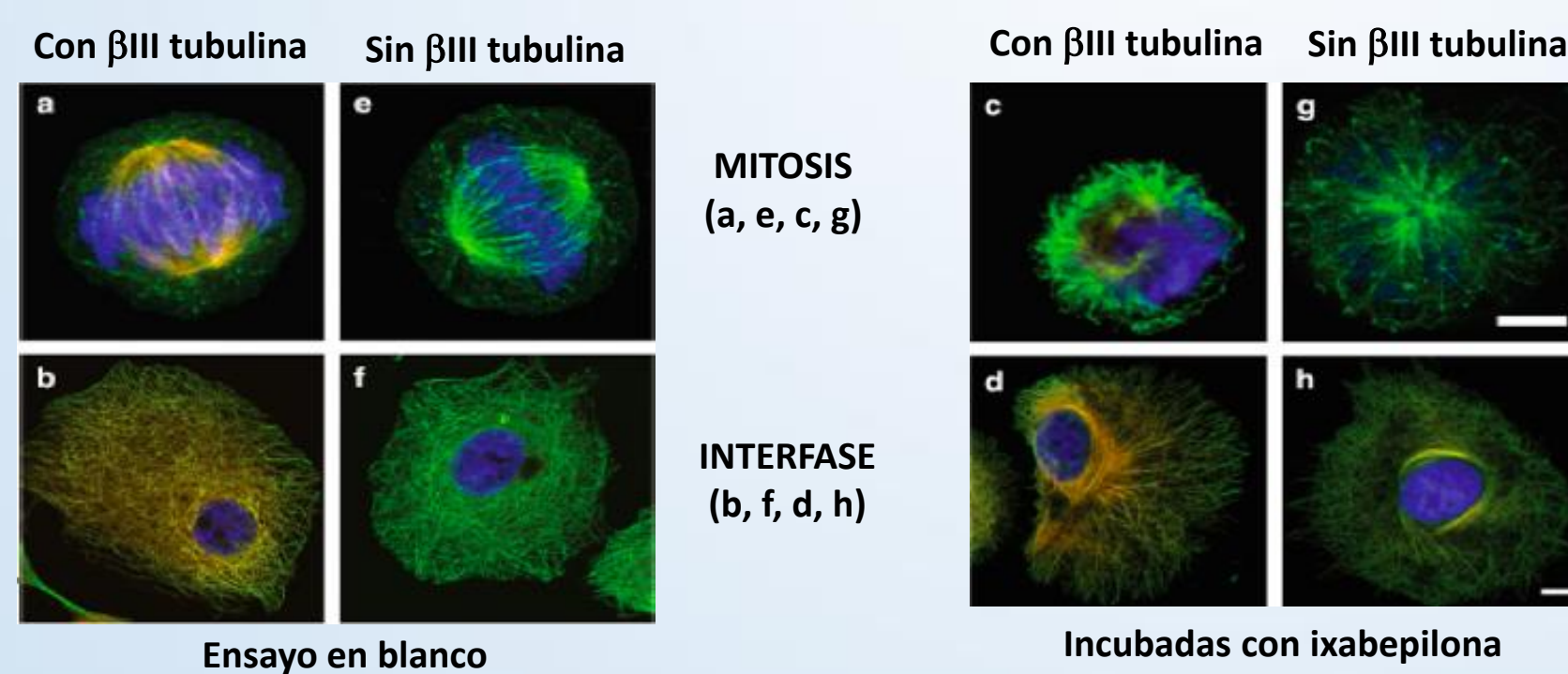
P<sub>app</sub> = coeficiente de permeabilidad aparente

Ensayo en el que se analizó la concentración en cerebro y plasma en ratones tras la administración intraperitoneal de distintas epotilonas, PTX y análogos de éste.

Compuesto	2 horas (5mg/kg)			24 horas (10mg/kg)		
	Plasma ng/ml	Cerebro ng/g	C/P <sup>(1)</sup>	Plasma ng/ml	Cerebro ng/g	C/P
Paclitaxel	1286	85	0,07			
CNDR-3	15	ILD <sup>(2)</sup>	NC <sup>(3)</sup>			
CNDR-29	389	ILD	NC			
CNDR-66	14	109	7,6	ILD	64	NC
CNDR-85	5	236	52,9	1,7	259	157
CNDR-86	20	86	4,3	0,5	88	118
CNDR-87	1,4	71	52	ILD	28	NC
CNDR-88	12	30	2,6	6,1	45	7,3
CNDR-89	6,8	24	3,5	ILD	13	NC
CNDR-90	319	142	0,4	41	107	2,6

- 2. Sobreexpresión de determinadas isoformas de la tubulina:**

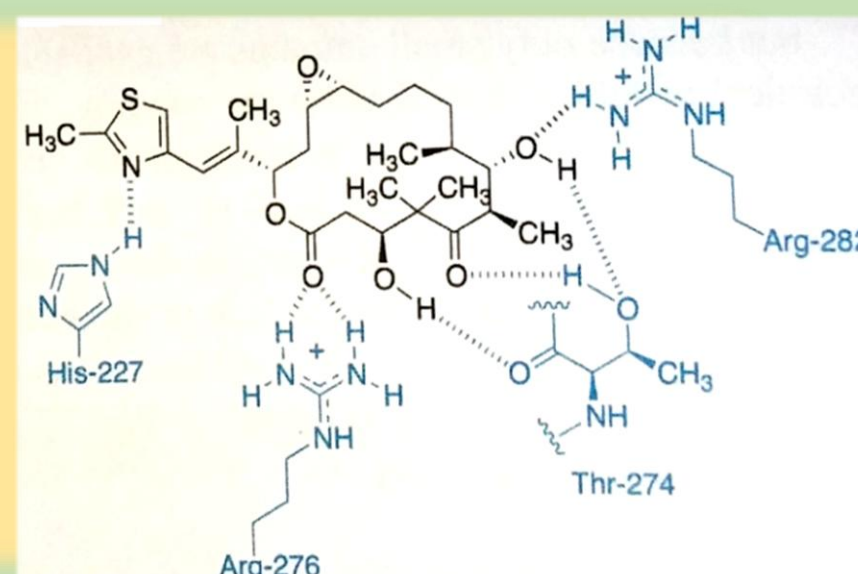
Isoforma βIII → prevalente en tejido neuronal y testículos, su expresión se asocia a cánceres resistentes. Isoforma βI → más abundante en general



- ❖ El PTX muestra mayor afinidad por la isoforma βI que por la βIII.
- ❖ Las epotilonas son activas en presencia de cualquiera de estas dos isoformas.

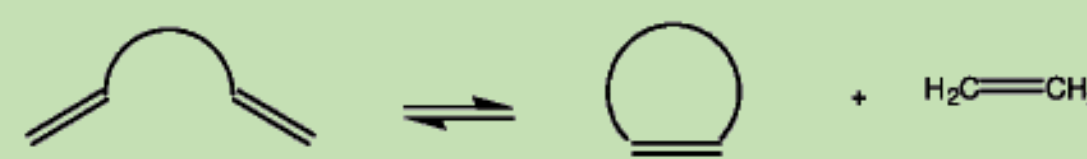
### SITIO DE UNIÓN COMÚN EN LA TUBULINA PARA EL PTX Y LAS EPO A Y B

Las Epo A y B ocupan el mismo sitio en la subunidad β de la tubulina que los taxanos, aunque dicha unión está mediada por enlaces de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas diferentes en ambos compuestos.<sup>4</sup>



### SÍNTESIS

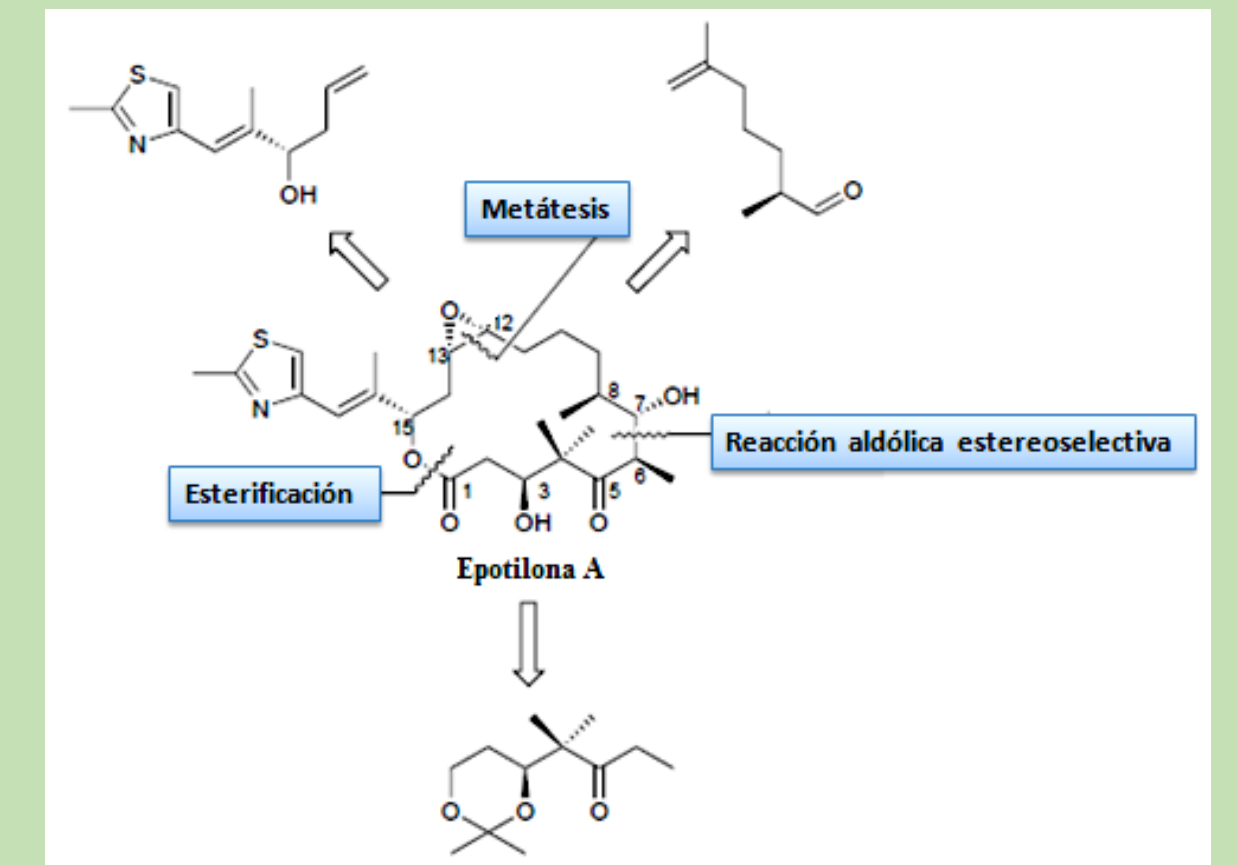
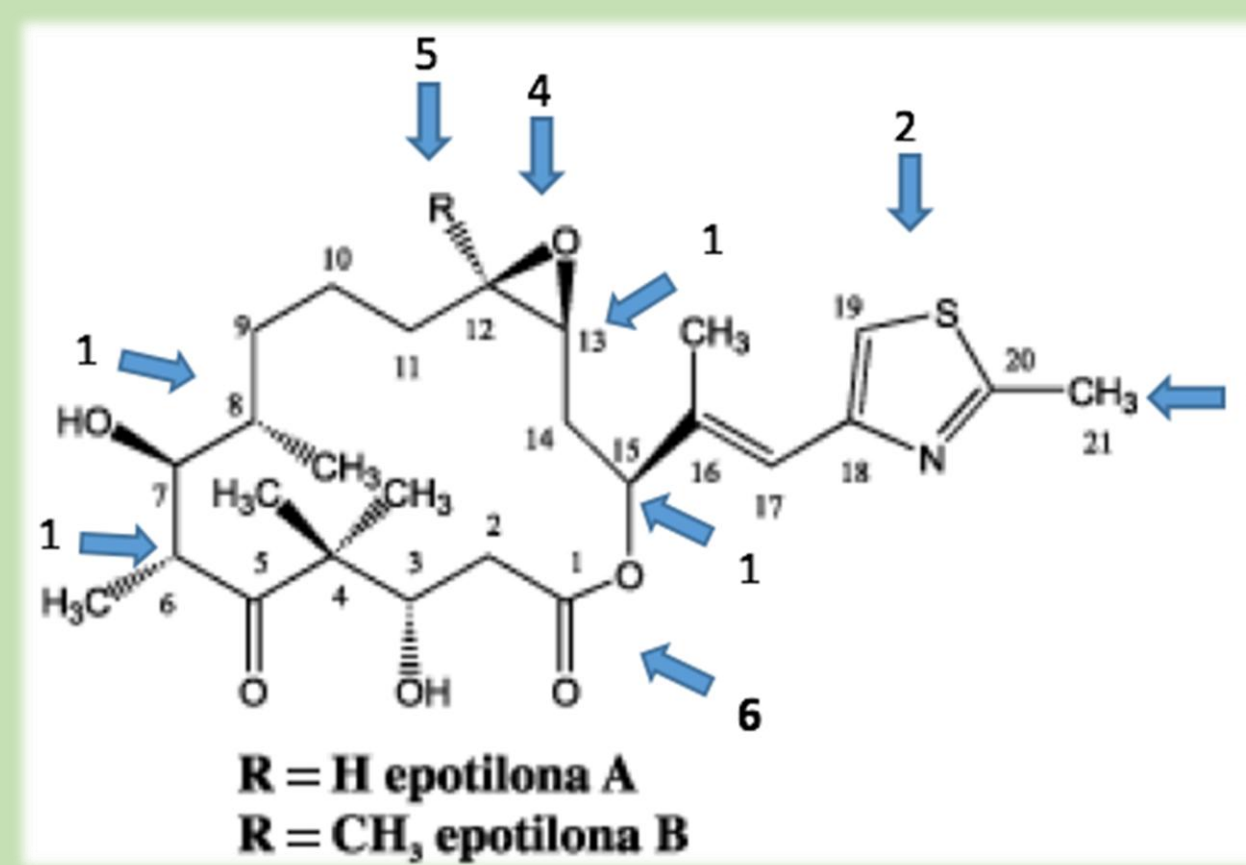
Danishefsky, Nicolaou y Schinzer publicaron rutas sintéticas basadas en las mismas estrategias: reacción de adición aldólica estereoselectiva, macrolactonización y finalmente metátesis olefínica.



**Metátesis:** proceso reversible de intercambio de grupos entre dos olefinas en presencia de catalizadores.

### RELACIÓN ESTRUCTURA-ACTIVIDAD<sup>5</sup>

1. Configuración de los estereocentros C6; C8; C13; C15 debe ser la de los productos naturales.
2. Tiazol → piridina en la cadena lateral C15.
3. Metilo del tiazol → metiltio aumenta la afinidad de unión a la β-tubulina.
4. Grupo epoxi → ciclopropilo (o un doble enlace).
5. Grupo metilo en C12 aumenta la actividad.
6. Grupo éster → grupo amida molécula metabólicamente más resistente.



### ENSAYOS CLÍNICOS<sup>6</sup>

- **Ixabepilona:** aprobada en 2007 por la FDA y distribuida por BMS. Indicada en monoterapia o en combinación con capecitabina para el tratamiento del cáncer de mama metastásico resistentes.
- **Patupilona:** resultados positivos en ensayos clínicos de fase II (Novartis) para el cáncer de pulmón de células no pequeñas con metástasis cerebral (2015). Recibió la designación de fármaco huérfano por la FDA y la AEMPS. En 2011 fue retirado del registro de medicamento huérfano en la UE.
- **Sagopilona:** resultados prometedores en ensayos clínicos de fase II (Bayer) para el tratamiento de cáncer de ovario resistente a platino, para el tratamiento del cáncer de próstata andrógeno independiente, para el cáncer de pulmón de células no pequeñas y para el melanoma (2008).
- **Epo D (KOS-862):** por atravesar la BHE sin ser expulsada por gp-1 y su capacidad de estabilización de microtúbulos está en estudio para el tratamiento del Alzheimer.
- **BMS-310705:** Se han realizado ensayos clínicos de fase I obteniéndose resultados similares a los hallados en el caso de la ixabepilona.

## CONCLUSIONES

El descubrimiento de las epotilonas motivó el desarrollo de métodos de obtención así como modificaciones estructurales y estereoquímicas. Las epotilonas presentan ciertas ventajas frente al PTX: mayor potencia antitumoral, eficacia ante casos de resistencia y una disminución de los efectos secundarios. Se han llevado a cabo ensayos clínicos de los cuales, el más exitoso fue el de la ixabepilona, que se encuentra aprobada por la FDA. La epotilona D por su parte, es candidata como tratamiento en la enfermedad de Alzheimer.

## BIBLIOGRAFÍA:

- <sup>1</sup> Gerth K, Bedorf N, Höfle G, Reichenbach H y col. Epothilons A and B: antifungal and cytotoxic compounds from *Sorangium cellulosum*. Production, physico-chemical and biological properties. The Journal of Antibiotics. 1996;49(6):560-563.
- <sup>2</sup> Forli S. Epothilones: from discovery to clinical trials. Curr Top Med Chem. 2014;14(20):2332-2321.
- <sup>3</sup> Brunden K, Yao Y, Potuzak J y col. The characterization of microtubule-stabilizing drugs as possible therapeutic agents for Alzheimer's disease and related tauopathies. Pharmacol Research. 2011;63(4):341-51.
- <sup>4</sup> Avendaño C, Menéndez JC. Anticancer Drugs Targeting Tubulin and Microtubules. Medicinal Chemistry of Anticancer Drugs. 2015:359-390.
- <sup>5</sup> Martínez R, Díaz F, Andreu JM, O'Brate A y col. Interaction of Epothilone Analogs with the Paclitaxel Binding Site: Relationship between Binding Affinity, Microtubule Stabilization, and Cytotoxicity. Chemistry & Biology. 2004;11:225-236
- <sup>6</sup> Schiess R y Altmann K. Epothilones. En: Levin J. Macrocycles in Drug Discovery. Connecticut: Royal society of chemistry; 2014.78-108