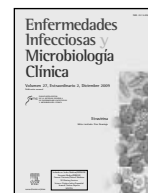




Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Características químicas, mecanismo de acción y actividad antiviral de etravirina

Federico García García*, Marta Álvarez Estévez y Vicente Guillot Suay

Unidad de Microbiología Molecular, Servicio de Microbiología, Hospital Universitario San Cecilio, Granada, España

RESUMEN

Palabras clave:

Etravirina
Estructura química
Mecanismo de acción
Actividad antiviral
No análogos de los nucleósidos
VIH

Etravirina (ETR) es un derivado diarilpirimidínico. Se trata de una molécula policíclica, constituida por 3 anillos aromáticos unidos por enlaces sencillos ($C_{20}H_{15}BrN_6O$). Ejerce su acción mediante un mecanismo de inhibición no competitiva, al unirse a un bolsillo hidrofóbico (*binding pocket*), muy cercano al centro activo de la enzima, provocando un cambio alostérico hacia una conformación que distorsiona su estructura e impide la polimerización del ADN. Al tratarse de 3 anillos unidos por enlaces sencillos, la molécula está dotada de una enorme flexibilidad y capacidad de torsión. Debido a estas características, ETR puede "acomodarse" a cambios conformacionales en el *binding pocket*, incluidas un gran número de las conformaciones provocadas por las mutaciones de resistencia que aparecen tras el fracaso a regímenes que incluyen efavirenz o nevirapina. Esta particular estructura química explicará gran parte de sus peculiaridades y diferencias en cuanto a su potencia antiviral y su elevada barrera genética. ETR es una molécula muy activa frente a VIH-1. Presenta una elevada barrera genética y ha demostrado actividad antiviral frente a un amplio panel de virus recombinantes que incorporan mutaciones de resistencia a los no análogos de primera generación. De igual modo, ha demostrado ser eficaz frente a diversos subtipos del grupo M del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) 1 (A, B, C, D, F y H y formas recombinantes CRF01_AE, CRF02_AG, CRF05_DF) y frente a aislados de VIH-1 grupo O. ETR, como el resto de no análogos, no ha demostrado actividad antiviral frente a VIH-2.

© 2009 Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Chemical characteristics, mechanism of action and antiviral activity of etravirine

ABSTRACT

Keywords:

Etravirine
Chemical structure
Mechanism of action
Antiviral activity
Non-nucleoside analogues
HIV

Etravirine (ETR) is a diarylpyrimidine derivative with a polycyclic molecule composed of 3 aromatic rings with single bonds between the rings ($C_{20}H_{15}BrN_6O$). The drug acts through a mechanism of noncompetitive inhibition on binding to a hydrophobic binding pocket, very close to the active center of the enzyme, provoking an allosteric transition to a conformation that distorts its structure and impedes DNA polymerization.

The 3 rings with single bonds between the rings confer the molecule with great flexibility and torsion. Because of these characteristics, etravirine can adapt to conformational changes in the binding pocket, including a large number of the conformations provoked by the resistance mutations that appear after failure to regimens that include efavirenz or nevirapine. This specific chemical structure largely explains the drug's distinguishing features in terms of its antiviral potency and high genetic barrier. ETR is a highly active molecule against HIV-1. This drug has a high genetic barrier to resistance and has demonstrated antiviral activity against a wide panel of recombinant viruses that incorporate resistance mutations to first-generation non-nucleoside analogues. Equally, ETR has demonstrated efficacy against several subtypes of the M group of HIV-1 (A, B, C, D, F and H, and recombinant forms CRF01_AE, CRF02_AG, CRF05_DF), as well as against isolates of HIV-1 group O. ETR, as the rest of non-nucleoside analogues, does not have demonstrated antiviral activity against HIV-2.

© 2009 Elsevier España, S.L. All rights reserved.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: fegarcia@ugr.es (F. García García).

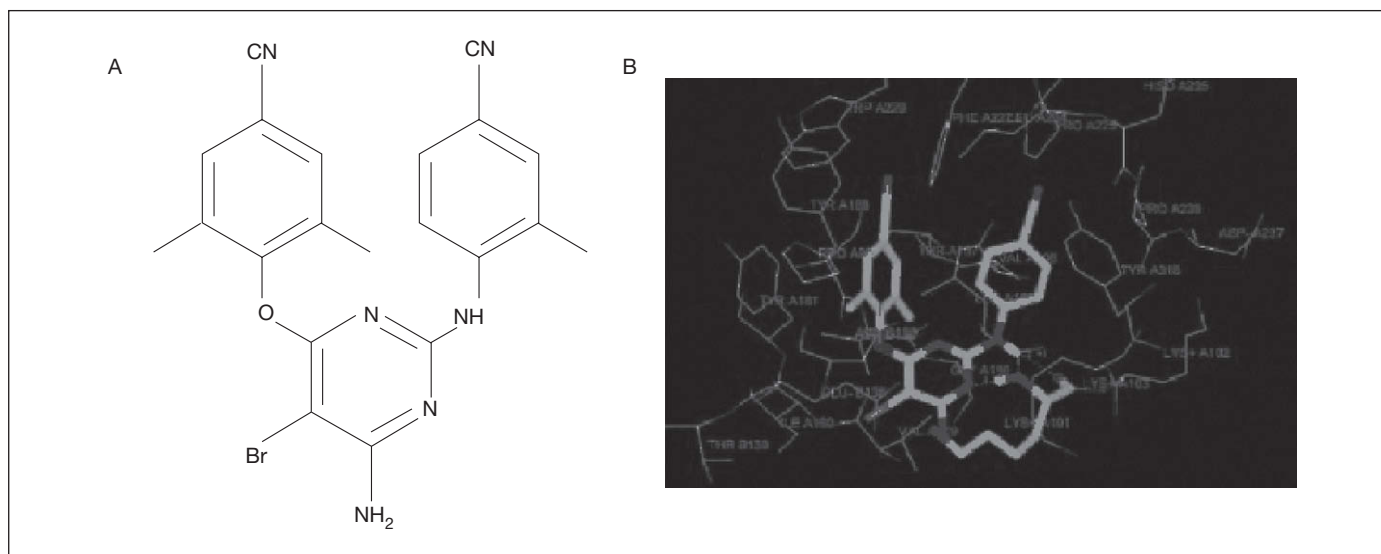


Figura 1. A. Estructura química de etravirina. B. Flexibilidad molecular de etravirina, con capacidad de recuperación frente al efecto de las mutaciones de resistencia. El medicamento se une de una manera muy flexible a la TI del VIH, interacciona con los átomos de la cadena principal de la TI y puede reorientarse y recolocarse en el bolsillo de unión a los NN⁴.

Estructura química

Etravirina (ETR) es, según su estructura química, un derivado diarilpirimidínico. Se trata de una molécula policíclica, constituida por 3 anillos aromáticos unidos por enlaces sencillos. Su fórmula química es 4-([6-amino-5-bromo-2-((4-cianofenil)amino)-4-pirimidinil]oxy)-3,5-dimetil-benzonitrilo, su fórmula molecular $C_{20}H_{15}BrN_6O$, y su peso molecular es 435,28 g/mol¹⁻³. La molécula de ETR se caracteriza por ser un polvo blanquecino o ligeramente amarillento, insoluble en agua, incluso en un rango variado de pH, muy soluble en propilenglicol y algo soluble en alcohol. Es soluble en polietilenglicol (PEG 400) y muy soluble en determinados disolventes orgánicos. La estructura química de ETR se muestra en la figura 1⁴.

In vitro, ETR se metaboliza fundamentalmente por el citocromo P450 (CYP)3A4 y CYP2C (2C9, 2C18 y 2C19). In vivo, la principal ruta de metabolización es la metil hidroxilación y posterior glucuronidación. Gran parte del fármaco se excreta a través de las heces sin metabolizar¹.

Mecanismo de acción

La transcriptasa reversa del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) es una enzima esencial para la replicación viral. Se encarga de catalizar la conversión del ARN genómico de cadena sencilla en ADN de doble cadena. Se trata de una enzima que posee 2 actividades, ADN polimerasa, dependiente de ARN o ADN, y ARNasa. Es un heterodímero compuesto por 2 proteínas de 66 kDa (p66) y 55 kDa (p55) cada una^{4,5}.

Al igual que los inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de los nucleósidos (ITINAN) de primera generación, ETR ejerce su acción mediante un mecanismo de inhibición no competitiva; en concreto, la inhibición se consigue al unirse a un bolsillo hidrofóbico (conocido como NNRTI *binding pocket*), muy cercano al centro activo de la enzima, en la subunidad p66⁶. Su unión provoca un cambio alostérico de la enzima hacia una conformación que distorsiona su estructura e impide la polimerización del ADN⁷. A diferencia de los análogos de nucleósidos, no requiere ser fosforilado intracelularmente para ser activo. Las mutaciones de resistencia a los ITINAN se localizan alrededor del *binding pocket* y provocan la pérdida de eficacia de esta familia de fármacos bien directamente, alterándolo, o indirectamente, impidiendo la llegada de los fármacos.

La particular estructura de ETR es fundamental para comprender algunos aspectos de su mecanismo de acción. Al tratarse de 3 anillos unidos por enlaces sencillos, la molécula está dotada de una enorme flexibilidad y capacidad de torsión. Algunos estudios de cristalografía y modelaje molecular⁸ demuestran que, debido a estas características, ETR puede adaptarse a cambios conformacionales en el lugar de unión de los ITINAN, lo que explicará gran parte de sus peculiaridades y diferencias en cuanto a su potencia antiviral y su elevada barrera genética, con respecto a los ITINAN de primera generación. En realidad, lo que ocurre es que ETR es capaz de "acomodarse" a un gran número de conformaciones de la molécula de la enzima viral, incluidas muchas de las provocadas por las mutaciones de resistencia que aparecen tras el fracaso a regímenes que incluyen efavirenz (EFV) o nevirapina (NVP). El mecanismo íntimo molecular y conformacional puede consultarse con mayor detalle en Jayaweera et al⁴.

Además del ya citado mecanismo de acción, se han propuesto otros mecanismos que podrían contribuir a la acción antiviral de ETR. En concreto, podría contribuir a un mayor procesamiento de *gag/gag-pol* y a un incremento en la formación de homodímeros inactivos de la subunidad p66 de la transcriptasa inversa⁹. Este efecto también se ha observado con EFV, aunque no con NVP ni con delavirdina.

Actividad antiviral

ETR es una molécula muy activa frente a VIH-1, con una concentración efectiva 50% (CE₅₀) de 1,4-4,8 nM, actividad comparable a la de EFV (1,0-3,4 nM). Ensayos clínicos en fase I han demostrado que tras 7 días en monoterapia, es capaz de conseguir un descenso medio en la carga viral de 1,99 logaritmos (rango: 3,39-1,13)^{3,10} (fig. 2)¹⁰.

Presenta una elevada barrera genética a la resistencia y ha demostrado actividad antiviral frente a un amplio panel de virus recombinantes que incorporan mutaciones de resistencia a los no análogos de primera generación¹¹, frente a los cuales es activa a concentraciones de CE₅₀ de 1-10 nM. Andries et al³ han presentado un estudio llevado a cabo en virus construidos mediante mutagénesis dirigida, bien con 1 mutación (n = 20) o con 2 mutaciones (n = 5) de ITINAN, demostrando como la actividad de ETR se mantenía en niveles de CE₅₀ por debajo de 5 nM y de *fold change* (FC) por debajo de 4 para la mayoría de los aislados, incluyendo a la mayoría de los

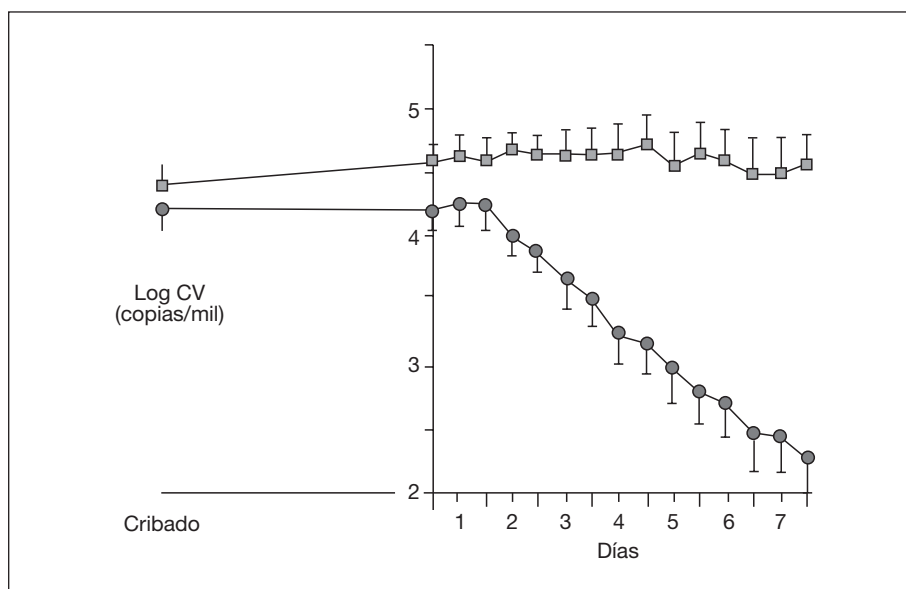


Figura 2. Descenso medio en la carga viral (CV) en pacientes en monoterapia con etravirina¹⁰.

Tabla 1

Actividad antiviral de etravirina frente a diversos aislados del grupo M del virus de la inmunodeficiencia humana-1³

Subtipo ^a (Pol)	n ^b	CE ₅₀ (nM)	FC
CRF02_AG	4	1,3 (0,9-1,9)	1,1 (0,7-1,5)
CRF01_AE	5	1,8 (1-4,3)	1,4 (0,8-3,3)
B	8	1,5 (0,9-3)	1,2 (0,7-2,3)
C	4	1,5 (1,0-2,4)	1,2 (0,8-1,9)
D	3	1,7 (1,2-1,7)	1,3 (1,0-1,3)
CRF05_DF	3	0,9 (0,8-1,0)	0,7 (0,7-0,8)
F	1	1,3	1,0
H	3	1,1 (0,9-1,8)	0,9 (0,7-1,4)

CE: concentración efectiva; FC: fold change.

^aEl subtipo se determinó usando la secuencia de la proteasa y parte de la transcriptasa reversa.

^bNúmero de cepas analizadas.

virus con 2 mutaciones. Sólo los virus con las mutaciones *Y181I*, *F227C* y la combinación *L100I* + *K103N* resultaron en una marcada resistencia fenotípica a ETR (CE₅₀ > 10 nM y FC > 10). Es necesario destacar que éstos son datos fenotípicos sobre mutantes construidos en el laboratorio, que se presentan con relativa escasa frecuencia en aislados clínicos; además, estos datos pueden no tener una exacta correlación con los datos generados in vivo para alguna de estas mutaciones, en especial para *K103N* (v. capítulo 7). De igual modo, un estudio realizado con alrededor de 2.000 aislados clínicos con resistencia a, al menos, un análogo de primera generación¹², demostró cómo ETR era capaz de inhibir el 98% de estas cepas con concentraciones < 100 nM (CE₅₀). En comparación con EFV, a CE₅₀ de 10 nM es capaz de inhibir el 77% de cepas con mutaciones de resistencia previamente descritas para no análogos, mientras que en este estudio EFV sólo fue capaz de inhibir el 23% de las cepas.

Tras estos datos fenotípicos iniciales, y tras la realización de los ensayos clínicos en fase III (DUET)^{13,14}, se dispone de un mayor número de datos genotípicos, de manera que su correlación con los datos de respuesta clínica ha permitido elaborar scores genotípicos de resistencia¹⁵ e incluso ponderar el peso de cada mutación sobre la pérdida de eficacia de ETR¹⁶. Estos datos se comentan con detalle en el capítulo de esta monografía "Etravirina: barrera genética y desarrollo de resistencias" (Llibre et al).

ETR ha demostrado ser eficaz frente a diversos subtipos de VIH-1. Andries et al³ evaluaron la actividad antiviral de ETR frente a subtipos A, B, C, D, F y H, así como a las formas recombinantes CRF01_AE,

CRF02_AG y CRF05_DF. Como se puede observar en la tabla 1, todos estos aislados del grupo M de VIH mostraron sensibilidad a ETR (CE₅₀ < 5 nM y FC < 4). Estos autores también han presentado datos de la actividad de ETR frente a un aislado de VIH-1 grupo O. El aislado del grupo O presentaba cambios naturales en las posiciones 98 (G), 179 (E) y 181 (C), mostrando elevados niveles de resistencia a todos los ITINAN a excepción de ETR, para la que el FC fue de 10. Recientemente, se ha descrito de nuevo su eficacia frente al VIH-1 grupo O. Briz et al¹⁷ describen un caso en el que, a pesar de detectar algunos polimorfismos naturales de grupo, como los detectados en las posiciones K103 (R), V179 (E) y G190 (A), y demostrar un marcado descenso en la actividad de EFV y NVP (IC₅₀ 53,43 y 534,3 nM, respectivamente), la actividad de ETR no se vio afectada fenotípicamente (IC₅₀ 0,04 nM) y tampoco supuso un compromiso en la eficacia virológica en términos de descenso de carga viral. ETR, como el resto de no análogos, no ha demostrado actividad antiviral frente a VIH-2.

Conflicto de intereses

El autor declara no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

- Seminari E, Castagna A, Lazzarin A. Etravirine for the treatment of HIV infection. Expert Rev Anti Infect Ther. 2008;6:427-33.
- Haslinger BA, Arendt G. TMC-125 tibotec. Curr Opin Investig Drugs. 2004;5:208-13.
- Andries K, Azijn H, Thielemans T, Ludovici D, Kukla M, Heeres J, et al. TMC125, a novel next-generation nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor active against nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor-resistant human immunodeficiency virus type 1. Antimicrob Agents Chemother. 2004;48:4680-6.
- Jayaweera DT, Espinoza L, Castro J. Etravirine: the renaissance of non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors. Expert Opin Pharmacother. 2008;9:3083-94.
- Knoll BM, Vento S, Temesgen Z. Etravirine. Drugs Today (Barc). 2008;44:23-33.
- Tachedjian G, Orlova M, Sarafianos SG, Arnold E, Goff SP. Nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors are chemical enhancers of dimerization of the HIV type 1 reverse transcriptase. Proc Natl Acad Sci USA. 2001;98:7188-93.
- Spence RA, Kati WM, Anderson KS, Johnson KA. Mechanism of inhibition of HIV-1 reverse transcriptase by non-nucleoside inhibitors. Science. 1995;267:988-93.
- Schöller-Gyüre M, Kakuda TN, Sekar V, Woodfall B, De Smedt G, Lefebvre E, et al. Pharmacokinetics of darunavir/ritonavir and TMC125 alone and coadministered in HIV-negative volunteers. Antivir Ther. 2007;12:789-96.
- Figueiredo A, Moore KL, Mak J, Sluis-Cremer N, De Bethune MP, Tachedjian G. Potent nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors target HIV-1 Gag-Pol. PLoS Pathog. 2006;2:e119.
- Gruzdev B, Rakhmanova A, Doubovskaya E, Yakovlev A, Peeters M, Rinehart A, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of TMC125 as 7-day monotherapy in antiretroviral naive, HIV-1 infected subjects. AIDS. 2003;17:2487-94.
- Vingerhoets J, Azijn H, Fransen E, De Baere I, Smeulders L, Jochmans D, et al. TMC125 displays a high genetic barrier to the development of resistance: evidence from in vitro selection experiments. J Virol. 2005;79:12773-82.

12. De Bethune MP, Hertogs K, Azijn H, Larder B, Andries K, Janssen PAJ, et al. R165335-TMC125, a third generation non nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NNRTI), inhibits 98% of more than 2,000 recombinant HIV clinical isolates at 100 nM. 40th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC). Toronto, Canada. 2000. Abstract 1841.
13. Madruga JV, Cahn P, Grinsztejn B, Haubrich R, Lalezari J, Mills A, et al. Efficacy and safety of TMC125 (etravirine) in treatment-experienced HIV-1-infected patients in DUET-1: 24-week results from a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*. 2007;370:29-38.
14. Lazzarin A, Campbell T, Clotet B, Johnson M, Katlama C, Moll A, et al. Efficacy and safety of TMC125 (etravirine) in treatment-experienced HIV-1-infected patients in DUET-2: 24-week results from a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*. 2007;370:39-48.
15. Vingerhoets J, Buelens A, Peeters M, Picchio G, Tambuyzer L, Van Marck H, et al. Impact of baseline NNRTI mutations on the virological response to TMC125 in the phase III clinical trials DUET-1 and DUET-2. XVI International HIV drug resistance workshop : basic principles and clinical implications. Barbados, West Indies. 2007. Abstract 32.
16. Vingerhoets J, Peeters M, Azijn H, Tambuyzer L, Hoogstoel A, Nijls S, et al. An update on the list of NNRTI mutations associated with decreased virological response to etravirine: multivariate analysis on the pooled DUET-1 and DUET-2 clinical trial data. XVII HIV Drug Resistance Workshop. Sitges, Spain. 2008. Abstract 24.
17. Briz V, Garrido C, Poveda E, Morello J, Barreiro P, De Mendoza C, et al. Raltegravir and etravirine are active against HIV type 1 group O. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2009;25:225-7.