



### G-202: una granada de mano contra el cáncer

Ma del Carmen Avendaño López

Académica de número de la Real Academia Nacional de Farmacia.  
Catedrática de Química Orgánica.  
e-mail: [avendano@ucm.es](mailto:avendano@ucm.es)

Recibido el 22 de abril de 2013

An. Real Acad. Farm. Vol 79, N° 2 (2013), pag. 194-199

**“Engineering a Prostate-Specific Membrane Antigen–Activated Tumor Endothelial Cell Prodrug for Cancer Therapy”, Denmeade *et al.*, *Sci. Transl. Med.*, 4, 140ra86 (2012)**

El 7 de septiembre de 2012 la revista Johns Hopkins Medicine comentaba que científicos del Johns Hopkins Kimmel Cancer Center estaban desarrollando, junto con investigadores daneses, el profármaco G-202, al que calificaban como una “granada de mano” contra el cáncer. El tratamiento con G-202 producía, tras 21 días, una reducción del tamaño de siete de los nueve tumores de próstata desarrollados en ratones superior al 50%. El 27 de junio de 2012, la revista Science Translational Medicine había publicado que G-202 es un profármaco que se activa en las células tumorales sin afectar a las sanas y produce como mínimo una regresión del 50% en modelos humanos de cáncer de mama, riñón y vejiga (1). Sobre esta base, varios hospitales norteamericanos se han implicado en un ensayo clínico de fase I para estudiar la seguridad de este compuesto, a la vez que se planifica un ensayo de fase II con pacientes de cáncer de próstata y de hígado.

Vamos a comentar aquí cuál es la base del diseño y el mecanismo de acción de esta “granada de mano” contra el cáncer comenzando por decir que, como otros muchos fármacos anticancerosos, está inspirada en un producto natural convenientemente modificado, y recordando que el lenguaje bélico se emplea con frecuencia en “la batalla” contra el cáncer. De hecho, la “declaración de guerra” al cáncer comenzó en 1971 con la firma por el Presidente Nixon de la Nacional Cancer Act.

El profármaco G-202 va dirigido contra la proteína denominada SERCA (sarcoplasmic/endoplasmic reticulum calcium adenosine triphosphatase), una ATPasa que se encuentra en el retículo sarcoplásmico de las células musculares y que durante la relajación muscular transporta  $\text{Ca}^{2+}$  desde el citosol al lumen de

dicho retículo a expensas de la hidrólisis de ATP. Esta función es imprescindible para la viabilidad de todos los tipos de células, debido a su papel crucial en la homeostasis del  $\text{Ca}^{2+}$  en el retículo endoplásmico. La tapsigargina es una toxina muy potente, aislada de la planta silvestre mediterránea *Thapsia garganica* (Figura 1), cuya toxicidad para los animales ya se conocía en la antigua Grecia. Las caravanas árabes la llamaban “zanahoria de la muerte”, porque mataba a los camellos que la ingerían. Hoy sabemos que esta toxina inhibe SERCA, pero al matar indiscriminadamente células cancerosas y normales es demasiado tóxica para su posible aplicación, por lo que se han sintetizado y estudiado distintos análogos, entre los que se encuentra 12-ADT (2).



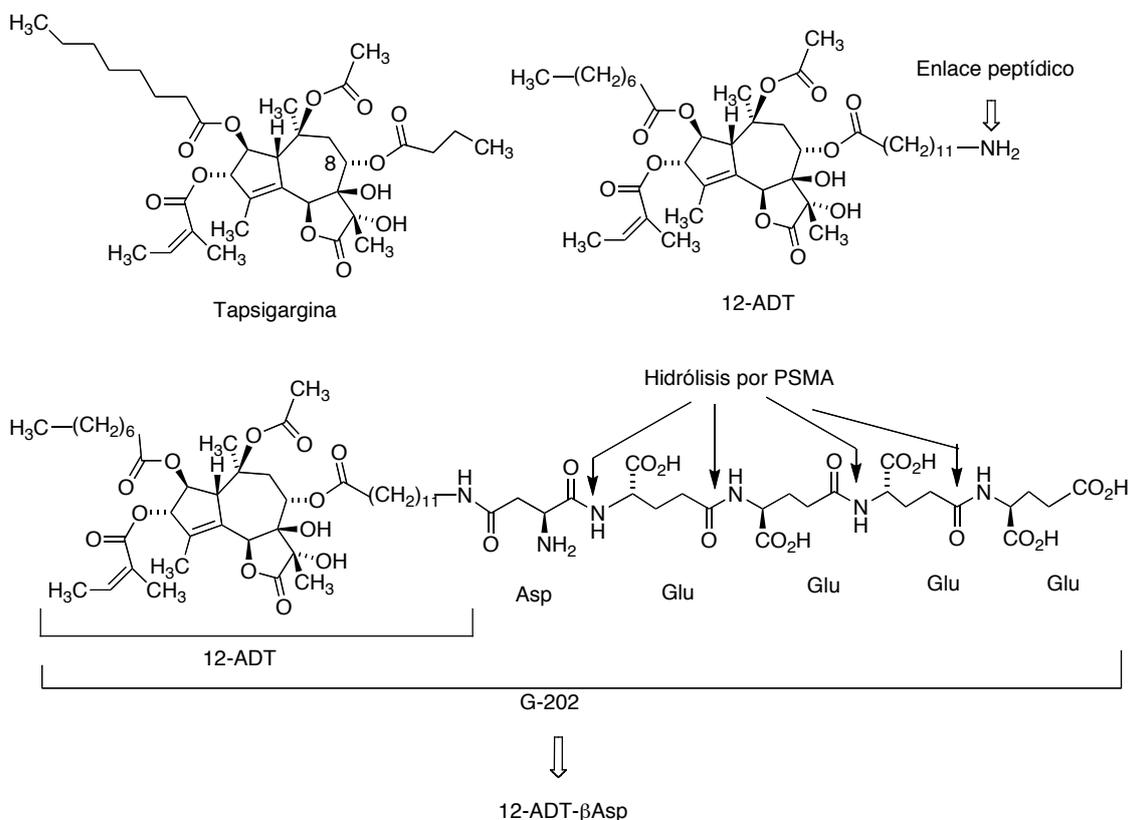
**Figura 1.-** *Thapsia garganica*.

Modificando selectivamente las cadenas laterales de la tapsigargina (ver la Figura 2) se determinó que la cadena en C-8 podía ser modificada sin afectar mucho a su enlace con SERCA. El derivado 8-*O*-(12-aminododecanoil)-8-*O*-debutanoil-tapsigargina (12-ADT) mantenía la actividad citotóxica y un grupo amino fácilmente acoplable a un péptido (3). Este péptido podría ser reconocido por una proteína específica de los tumores que tuviera actividad hidrolítica para así liberar in situ la citotoxina.

La proteína específica elegida para este propósito fue PSMA (prostate-specific membrane antigen), ya que se encuentra sobreexpresada en la neovasculatura (células endoteliales) de la mayoría de los tumores sólidos, especialmente en el de las células de cáncer de próstata (4), pero no en las células endoteliales normales (5). El antígeno PSM es una glicoproteína de

transmembrana de clase II que posee actividad de carboxypeptidasa (6). El gen que lo codifica se clonó a fin de desarrollar anticuerpos monoclonales para su posible uso como reactivos de imagen en el cáncer de próstata metastático. El éxito obtenido con el anticuerpo PSMA J591, marcado con el radionúclido lutecio-177, sugirió que se podría utilizar la actividad proteolítica de este antígeno para activar un profármaco y lograr la muerte selectiva de las células cancerosas en los lugares en que se encuentran las metástasis (7).

Teniendo en cuenta la actividad de 12-ADT- $\beta$ -Asp como una pteroil poly- $\gamma$ -glutamil carboxipeptidasa (folato hidrolasa), se identificaron varios sustratos peptídicos específicos de PSMA y se enlazaron al análogo de tapsigargina 12-ADT para producir, entre otros muchos, el profármaco G-202, que se hidroliza *in situ* para dar el fármaco activo 12-ADT- $\beta$ -aspártico (Figura 2). En estos estudios se demostró que los péptidos que contenían 5 aminoácidos ácidos podían ser hidrolizados por PSMA y los grupos carboxilo cargados negativamente impedían la penetración del profármaco antes de su hidrólisis en la membrana plasmática de las células normales. G-202 es completamente estable a la hidrólisis en el plasma, siendo ésta específica de PSMA.



**Figura 2.-** Estructuras de tapsigargina, 12-ADT y G-202.

El análisis por difracción de rayos X de la estructura cristalina del complejo que forman SERCA (con 3 dominios citoplasmáticos y 10 hélices de

transmembrana) (8) y 12-ADT- $\beta$ -Asp, demuestra que la cadena de 12 carbonos penetra en el dominio de transmembrana y sitúa el residuo de aspártico hacia el citoplasma, en un lugar de unión opuesto al que ocupa la tpsigargina. El grupo  $\alpha$ -amino de dicho residuo forma un enlace de hidrógeno con el residuo de glutamina Gln-250 de SERCA.

Por otra parte, los estudios estructurales del lugar catalítico de PSMA demostraron que éste posee un embudo profundo que va desde su superficie al sitio activo. La longitud de la cadena de 12 átomos de carbono de G-202 permite que la porción voluminosa correspondiente a tpsigargina quede en el exterior y la cadena polipeptídica se sitúe en el centro activo, donde los residuos de glutamato se van hidrolizando secuencialmente, sin que los sustratos así originados se liberen del lugar catalítico (9).

El análisis histológico de los tumores realizado tras el tratamiento con G-202 en ratones xenotransplantados con cáncer de próstata humano reveló extensas áreas necróticas y extravasación de glóbulos rojos. Estudios previos demostraron además que 12-ADT- $\beta$ -Asp produce una menor expresión del receptor androgénico en células de cáncer de próstata y la liberación del factor inductor de apoptosis (AIF) desde la mitocondria al núcleo, como parte del proceso que conduce a la muerte celular en dichas células (10). Como ya se ha comentado G-202 es igualmente activo en otros tumores sólidos, cuyas células endoteliales expresan PSMA.

Tras su administración intravenosa, G-202 puede viajar a través del torrente sanguíneo hasta que entra en contacto con PSMA, que se libera a los microentornos del cáncer de próstata y otros tumores sólidos, produciéndose entonces su activación (retirada del seguro de la *granada de mano*) y liberándose el compuesto tóxico 12-ADT- $\beta$ -Asp. Éste se enlaza y bloquea el sistema de transporte SERCA, vaciando los almacenes de calcio en el retículo endoplásmico y produciendo la apertura de los canales de calcio en la membrana plasmática. La consiguiente elevación de los niveles de  $\text{Ca}^{2+}$  citosólico induce la apoptosis (11). Este proceso es independiente del ciclo celular, por lo que es altamente tóxico para todas las células, sea cual sea su estado de división. Tiene lugar a través de varios factores, entre los que se encuentran la activación de caspasas, la liberación de factores apoptóticos desde la mitocondria y la activación directa de endonucleasas dependientes de calcio que rompen el ADN (12).

En comparación con la tpsigargina, que se distribuye en el organismo de forma indiscriminada, G-202 es capaz de liberar en el tumor altas concentraciones del tóxico 12-ADT- $\beta$ -Asp, evitando la toxicidad sistémica. En los estudios toxicológicos realizados con animales se observó nefrotoxicidad debida probablemente a la expresión de PSMA en los túbulos proximales del riñón pero, afortunadamente, esta toxicidad revierte cuando cesa el tratamiento. Por otra

parte, aunque se observaron lesiones linfoides moderadas, no se produjeron lesiones cerebrales. Las dosis no tóxicas sirvieron para seleccionar en los ensayos clínicos de fase I ya iniciados, una dosis de 1,5 mg/m<sup>2</sup>.

## Conclusión

GenSpera, la empresa que desarrolla G-202, ha sido autorizada en EEUU y Gran Bretaña para la realización de un ensayo en fase II en pacientes con cáncer de próstata en los que ha fallado la terapia antiandrogénica o la quimioterapia. Los fármacos que se utilizan en estos tratamientos tienen mecanismos de acción diferentes a G-202, por lo que este compuesto representa una alternativa de gran interés para el cáncer de próstata metastático. Sin embargo, no hay nada peor que levantar falsas esperanzas en nuevos tratamientos contra el cáncer, ya que muchas de ellos han de abandonarse por motivos de seguridad y/o eficacia. No obstante, aunque conduzcan finalmente a un fracaso, la búsqueda de nuevas vías es el único camino para profundizar en el conocimiento de estas enfermedades.

## Referencias

1. Denmeade, S. R.; Mhaka, A. M.; Rosen, D. M.; Brennen, W. N.; Dalrymple, S.; Dach, I.; Olesen, C.; Gurel, B.; DeMarzo, A. M.; Wilding, G.; Carducci, M. A.; Dionne, C. A.; Møller, J. V.; Nissen, P.; Christensen, S. B.; Isaacs, J. T.; (2012) "Engineering a Prostate-Specific Membrane Antigen-Activated Tumor Endothelial Cell Prodrug for Cancer Therapy", *Sci. Transl. Med.*, 4, 140ra86.
2. Sørhoel, H.; Jensen, A. M.; Møller, J. V.; Nissen, P.; Denmeade, S. R.; Isaacs, J. T.; Olsen, C. E.; Christensen, S. B.; (2006) "Natural products as starting materials for development of second-generation SERCA inhibitors targeted towards prostate cancer cells", *Bioorg. Med. Chem.*, 14, 2810-2815.
3. Singh, P.; Mhaka, A. M.; Christensen, S. B.; Gray, J. J.; Denmeade, S. R.; Isaacs, J. T.; (2005) "Applying linear interaction energy method for rational design of noncompetitive allosteric inhibitors of the sarco- and endoplasmic reticulum calcium-ATPase", *J. Med. Chem.*, 48, 3005-3014.
4. Horoszewicz, J. S.; Kawinski, E. ; Murphy, G. P.; (1987) "Monoclonal antibodies to a new antigenic marker in epithelial prostatic cells and serum of prostatic cancer patients", *Anticancer Res.* 7, 927-935.
5. Samplaski, M. K.; Heston, W.; Elson, P.; Magi-Galluzzi, C.; Hansel, D. L.; (2011) "Folate hydrolase (prostate-specific antigen) 1 expression in bladder cancer subtypes and associated tumor neovasculature", *Mod. Pathol.*, 24, 1521-1529.
6. Pinto, J. T.; Suffoletto, B. P.; Berzin, T. M.; Qiao, C. H.; Lin, S.; Tong, W. P.; May, F.; Mukherjee, B.; Heston, W. D.; (1996) "Prostate-specific membrane antigen: a novel folate hydrolase in human prostatic carcinoma cells", *Clin. Cancer Res.*, 2, 1445-1451.
7. Milowsky, M. I.; Nanus, D. M.; Kostakoglu, L.; Sheehan, C. E.; Vallabhajosula, S.; Goldsmith, S. J.; Ross, J. S.; Bander, N. H.; (2007) "Vascular targeted therapy with anti-prostate-specific membrane antigen monoclonal antibody J591 in advanced solid tumors", *J. Clin. Oncol.* 25, 540-547.
8. Davis, M. I.; Bennett, M. J.; Thomas, L. M.; Bjorkman, P. J.; (2005) "Crystal structure of prostate-specific membrane antigen, a tumor marker and peptidase", *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 102, 5981-5986.

9. Mesters, J. R.; Barinka, C.; Li, W.; Tsukamoto, T.; Majer, P.; Slusher, B. S.; Konvalinka, J.; Hilgenfeld, R.; (2006) "Structure of glutamate carboxypeptidase II, a drug target in neuronal damage and prostate cancer", *EMBO J.*, 25, 1375-1384.
10. Vander Griend, D. J.; Antony, L.; Dalrymple, S. L.; Xu, Y.; Christensen, S. B.; Denmeade, S. R.; Isaacs, J. T.; (2009) "Amino acid containing thapsigargin analogues deplete androgen receptor protein via synthesis inhibition and induce the death of prostate cancer cells", *Mol. Cancer Ther.*, 8, 1340-1349.
11. Deniaud, A.; Sharaf el dein, O.; Malillier, E.; Poncet, D.; Kroemer, G.; Lemaire, C.; Brenner, C.; (2008) "Endoplasmic reticulum stress induces calcium-dependent permeability transition, mitochondrial outer membrane permeabilization and apoptosis", *Oncogene*, 27, 285-299.
12. Tabas, I.; Ron, D.; (2011) "Integrating the mechanisms of apoptosis induced by endoplasmic reticulum stress", *Nat. Cell Biol.*, 13, 184-190.