



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO
“DISEÑO DE FÁRMACOS ANTIVIRALES
BASADO EN EL COMPLEJO DE LA
POLIMERASA DEL VIRUS DE LA GRIPE”**

Autor: Doña Mercedes Fernández Alonso de Velasco

Tutor: Dra. Doña Carmen Pedregal Freire

Convocatoria: Febrero 2019

INDICE

1. RESUMEN	3
1.1 ABSTRACT	3
2. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES	4
3. OBJETIVOS	8
4. METODOLOGÍA	8
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	8
5.1. ANÁLOGOS DE NUCLEÓSIDOS	9
5.2. INHIBIDORES DE LA PB2	14
5.3. TRATAMIENTO DEL VIRUS DE LA INFLUENZA B	17
6. CONCLUSIONES	19
7. BIBLIOGRAFÍA	19

1. RESUMEN

La gripe se trata de una enfermedad respiratoria que produce cada año epidemias con elevada mortalidad en todo el mundo. Está producido por *Influenzavirus*, que tiene una serie de proteínas que son vitales en el desarrollo de fármacos para combatir dicha enfermedad.

Esta enfermedad aparece cada año debido a la capacidad de mutación que tiene este virus. Además de las vacunas, que se desarrollan cada año contra este virus, hay un escaso número de fármacos antigripales, los más antiguos son los inhibidores de la proteína M2 o del canal iónico (amantadina y rimantadina) y los inhibidores de la neuraminidasa (zanamivir, oseltamivir y peramivir), cuya eficacia ha sido ampliamente cuestionada, ya que han aparecido resistencias que los han hecho poco efectivos, especialmente en los pacientes con neumonías gripales graves ingresados. Por todo ello, parece urgente disponer de algún otro antiviral que pueda ser utilizado en estos pacientes graves, y por tanto, la búsqueda de nuevas dianas en el desarrollo de nuevos antigripales, así como la mejora de los ya existentes.

De este modo, han surgido en los últimos años los inhibidores de la ARN polimerasa de este virus que han supuesto una gran mejora en la lucha contra la gripe por ser capaces de tratar virus resistentes a tratamientos anteriores. Entre ellos, cabe destacar el favipiravir, que aún no ha sido aprobado en España. Dado su alto potencial, se están haciendo esfuerzos en la búsqueda de nuevos inhibidores mejores y más potentes frente a esta nueva diana.

1.1 ABSTRACT

The flu is a respiratory disease that produces every year epidemics with high mortality around the world. It is caused by the influenza virus, which has a number of proteins that are vital in the development of drugs to combat the disease.

This disease appears every year due to the capacity of mutation that has this virus. In addition to vaccines, which are developed each year against this virus, there are a small number of influenza drugs, the oldest are the protein M2 inhibitors (amantadine and rimantadine) and neuraminidase inhibitors (zanamivir, oseltamivir and peramivir), whose effectiveness has been widely challenged, since resistances have made them little effective, especially in patients with severe flu-like pneumonia. Therefore, it seems urgent to have some other antivirals that can be used in critical patients, and therefore the search for new targets in the development of new influenza, as well as the improvement of existing ones.

Thus, have emerged in recent years inhibitors of RNA polymerase from this virus that have led to a great improvement in the fight against influenza by being able to treat viruses

resistant to previous treatments. Among them, it should be mentioned the favipiravir, which has not yet been approved in Spain. Given its high potential, there are making efforts in the search for new inhibitor best and strongest against this new target.

2. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

La gripe es una enfermedad zoonótica respiratoria aguda causada por el Influenzavirus que produce miles de muertes al año en todo el mundo debido a su alta capacidad para generar variantes antigénicas. Dicho virus pertenece a la familia *Orthomyxoviridae*, la cual se compone de 5 géneros: *Isavirus*, *Thogotovirus* y virus de la gripe A, B y C (los *Influenzavirus* propiamente dichos) y un potencial cuarto grupo descubierto recientemente, el D. Los géneros gripales A y B constituyen los 2 más importantes, pues el virus gripal C tiene un escaso interés en patología humana. El más agresivo y patógeno es el *Influenzavirus A*. Todos presentan ARN segmentado, monocatenario y de polaridad negativa, además de una envuelta lipídica; pero se diferencian por su estructura. Por ejemplo, los virus A y B tienen 8 fragmentos de ARN mientras que los virus C y D presentan ambos 7 [1–3]. Los 3 virus A, B y C comparten una característica, y es que pueden cambiar y entremezclar la información genética con cepas del mismo género.

Poseen 3 tipos de proteínas de membrana, todas integrales: hemaglutinina (HA), neuraminidasa (NA) y la proteína de la matriz 2 (M2) en la envuelta lipídica (figura 1) [2].

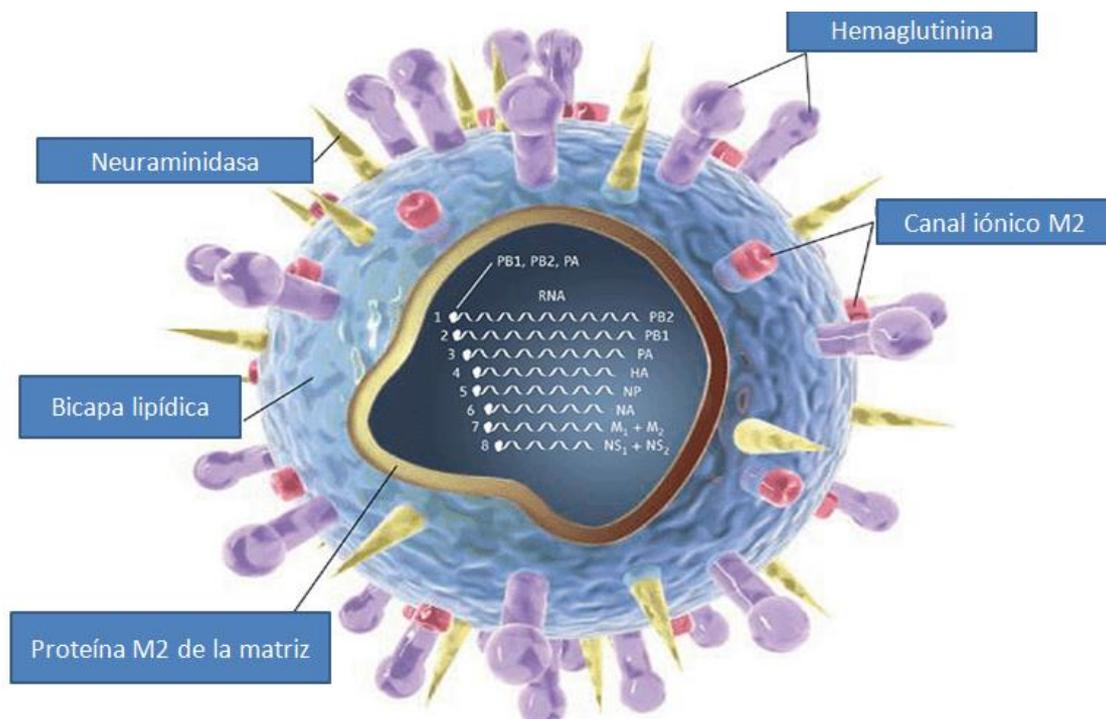


Fig. 1 Estructura del Influenzavirus con las glicoproteínas de superficie, proteínas estructurales y RNP. [2]

HA además de aglutinar hematíes y ser un factor antigénico, se encarga del reconocimiento entre la membrana del virus y la membrana de la célula hospedadora. Por su parte, NA es responsable de liberar las partículas víricas para favorecer la diseminación del virus. En función de las diferencias antigénicas entre los dos tipos de proteínas de superficie, HA y NA, se dividen en varios subtipos, los más relevantes de los últimos años son: H1N1, H2N2, H3N2 y H5N1. M2 es un canal iónico que conduce protones hasta dentro del virus para eliminar la cubierta lipídica más fácilmente.

En el interior de la envuelta lipídica se encuentra M1, que forma una capa en cuyo interior se encuentran el genoma y las ribonucleoproteínas, que intervienen en la replicación y transcripción, y que suponen una importante diana para antivirales [2]. Entre las ribonucleoproteínas destaca el complejo de polimerasa de ARN, que es un complejo proteico dependiente de ARN. Se compone de la proteína básica 2 (PB2), la proteína básica 1 (PB1) y la proteína ácida (PA), estando las 3 estrechamente asociadas (figura 2).

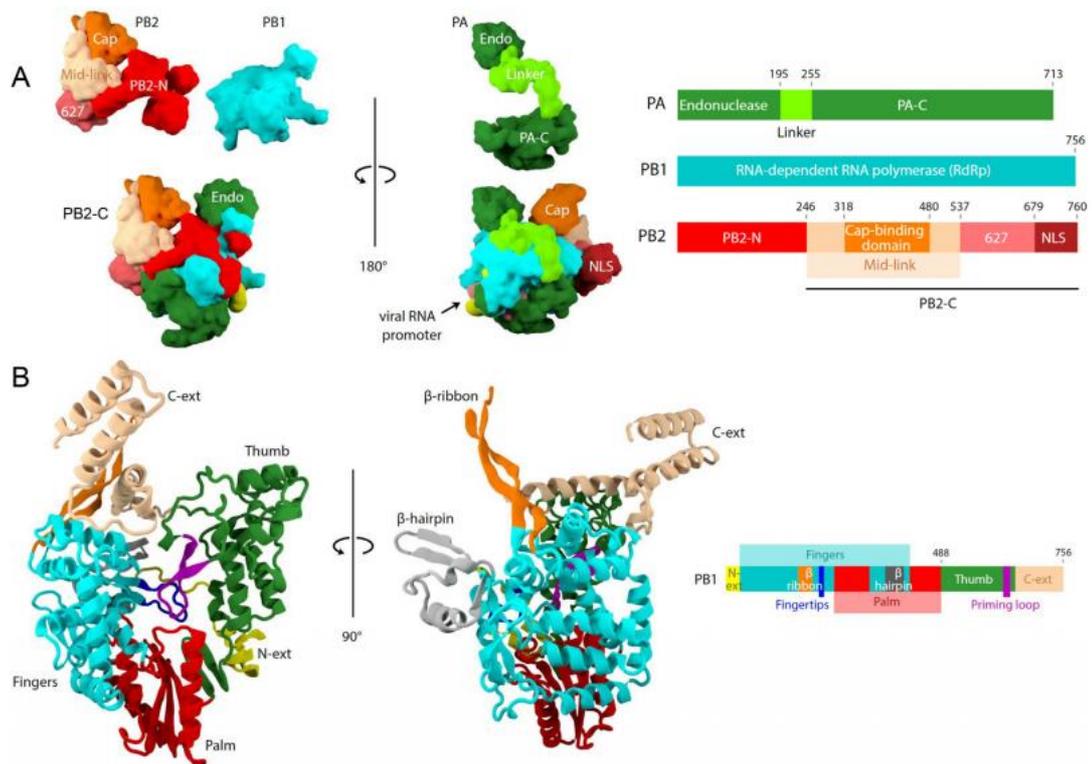


Fig. 2 Estructura detallada de la ARN polimerasa del *Influenzavirus*. [18]. Izda: A: diagramas de superficie de cada subunidad y su ensamblaje en el heterotrímero y en B: diagrama de cinta de la subunidad PB1 que muestra los dominios de los dedos, la palma y el pulgar típicos de las ARN polimerasas. Dcha: la posición de cada dominio dentro de la secuencia de subunidades junto con el código de color.

PB1 es una polimerasa dependiente de ARN cuya función es elongar la cadena de ARN. PB2 es el encargado del “cap-snatching”, que consiste en unir su extremo C-terminal a la

“caperuza” (cap) 7-metilguanosa del extremo 5´-terminal de las moléculas de pre-ARNm de la célula huésped que serán posteriormente utilizadas como cebadores para la síntesis de los ARNm virales. Por último, PA es una endonucleasa [2]. Además la ARN polimerasa viral se encuentra unida a su promotor, que consiste en los extremos 5´ y 3´ conservados y casi complementarios del ARN viral.

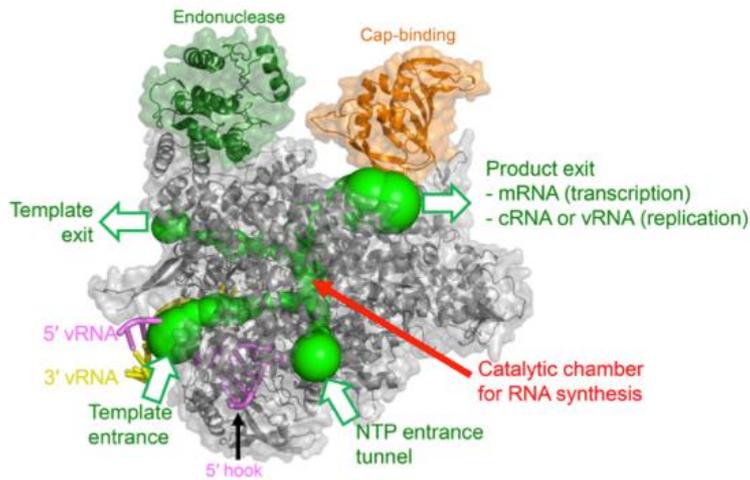


Fig. 3 Túneles internos de la ARN polimerasa del *Influenzavirus*. [18]. Se puede observar el sitio catalítico donde ocurre la síntesis de ARN, el lugar por donde salen los productos sintetizados, como el ARN mensajero, el ARN viral y el ARN complementario. Además se ve la endonucleasa y el lugar de unión de “cap”.

Cada ribonucleoproteína actúa como una unidad autónoma de transcripción-replicación. El ARN viral puede ser transcrito en un ARN mensajero viral poliadenilado, o puede ser copiado sin ninguna modificación y formar ARN complementario como se muestra en la figura 4. Sin embargo es la transcripción el proceso que predomina y que permite la acumulación de proteínas virales como se ve en el punto 3 de la figura 4.

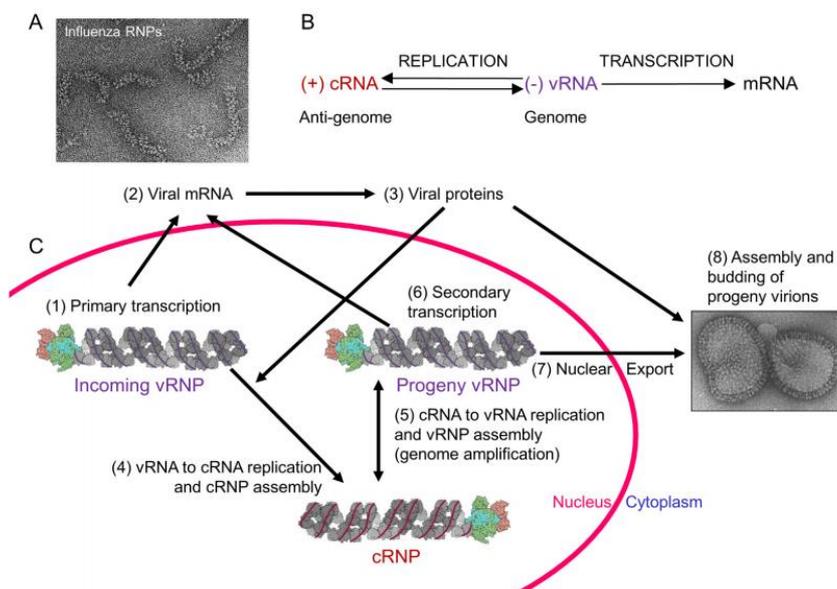


Fig. 4 A Imagen en negativo de RNPs de viriones de *Influenza*. B Esquema de la síntesis de ARN llevada a cabo por la polimerasa. C Ciclo vital del *Influenzavirus*[18].

La vacunación anual, es la mejor manera de prevenir la infección, especialmente en los grupos de población de mayor riesgo, como inmunodeprimidos, ancianos y niños, puesto que las cepas mutan antigénicamente cada año [2]. Los fármacos antivirales (figura 2), se clasifican en 7 grupos en función de las dianas, así encontramos los

- Inhibidores de la entrada como el ácido glicirrízico y la cloroquina,
- Inhibidores de la hemaglutinina, como la nitazoxanida y BMY-27709,
- Inhibidores de la neuraminidasa, sobresalen oseltamivir y zanamivir
- Inhibidores de la proteína de la nucleocápside, como ingavirin
- Inhibidores del canal M2, se encuentran la amantadina y la rimantidina
- Clorhidrato de arbidol
- Inhibidores de la ARN polimerasa dependiente de ARN dependiente con 4 subgrupos:
 - (i) Disruptores de ARN polimerasa dependiente de ARN (RdRp), llamados inhibidores de la interacción proteína-proteína (PPI);
 - (ii) Inhibidores de la unión a la cabina de PB2 donde se incluye al pimodivir (VX-787),
 - (iii) Inhibidores de la endonucleasa PA como el baloxavir (S-033188) y el RO-7,
 - (iv) Inhibidores de PB1 o análogos de nucleósidos, que incluye al favipiravir y a la ribavirina [5].

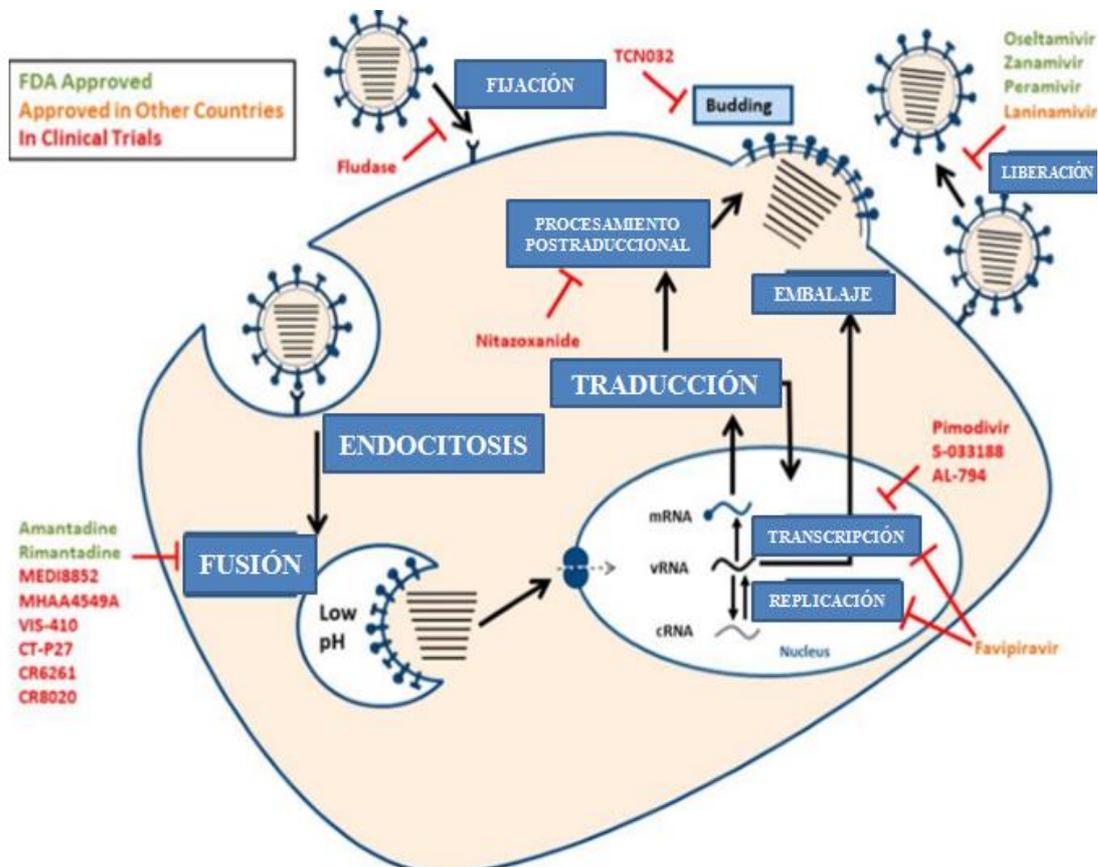


Fig. 5 Antigripales existentes hasta el año 2017 y lugares de acción. [6]

Este trabajo se va a centrar fundamentalmente en el estudio de los análogos de nucleósidos y los inhibidores de la PB2 que son inhibidores de la ARN polimerasa ARN dependiente, dado su interés reciente. También se explicarán nuevas dianas para tratar la infección por *Influenzavirus* B puesto que la mayoría de los tratamientos existentes no sirven para esta cepa.

3. OBJETIVOS

El principal objetivo de este trabajo es realizar una revisión bibliográfica para conocer las nuevas dianas farmacológicas y nuevos tratamientos frente al virus de la gripe, que actúan como inhibidores de la ARN polimerasa dependiente de ARN, así como los nuevos fármacos que están en investigación y desarrollo.

Además, se desarrollará con brevedad sobre tratamientos nuevos contra la cepa B de *Influenzavirus* debido a la falta de eficacia de los ya existentes.

4. METODOLOGÍA

Se ha llevado a cabo una revisión bibliográfica de los artículos más recientes e interesantes encontrados en distintas fuentes bibliográficas como páginas web y revistas científicas fiables como son: PubMed, PubChem, Uptodate, Google académico y MedlinePlus. Además, se han visitados páginas web como la de la AEMPS, y en concreto CIMA, para ver si estos fármacos están aprobados en España, así como ScienceDirect, Scielo y Elsevier.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La polimerasa supone una excelente diana para fármacos anti-influenza puesto que su inhibición supone una rápida y directa reducción o eliminación de la replicación del ARN viral. Además hay numerosos potenciales sitios de unión donde pequeñas moléculas pueden unirse para interrumpir su actividad como el sitio de unión de cap, la subunidad PB1 y la endonucleasa entre otros [18].

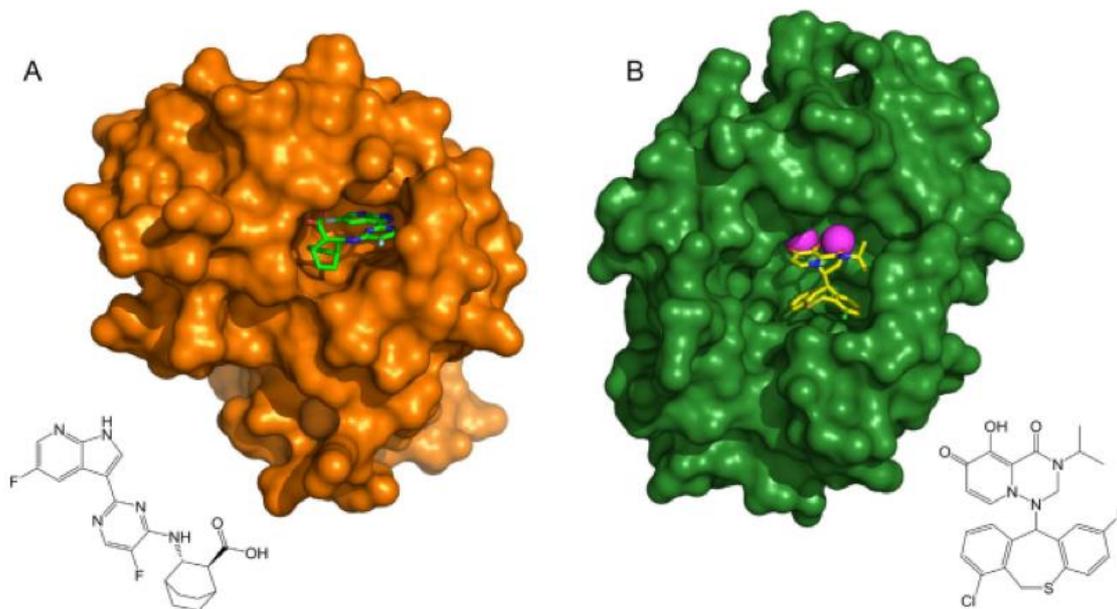


Fig. 6 Sitio de unión de distintos inhibidores de la ARN polimerasa. [18]. A: Pimodivir, en el dominio de unión de cap. B: inhibidor unido al dominio de la endonucleasa..

Como se ha mencionado anteriormente, serán estudiados a continuación los análogos de nucleósidos como favipiravir y ribavirina y los inhibidores de la PB2 de reciente aparición, como pimodivir, que actúan como inhibidores de ARN polimerasa dependiente de ARN frente al virus de la gripe. Estas dos subfamilias son las más desarrolladas con un mayor número de ensayos biológicos.

Además, después de la lectura de la bibliografía disponible se ha podido observar que son pocos y de baja efectividad los tratamientos frente al *Influenzavirus B*, y por ello se tratará también en este trabajo los nuevos fármacos contra esta cepa.

Ha sido gracias a pioneras técnicas cristalográficas que se ha podido analizar la polimerasa del *Influenzavirus A*, *B* y *C*, y esto es lo que ha permitido el diseño de inhibidores alostéricos que serán desarrollados a continuación [16].

5.1. ANÁLOGOS DE NUCLEÓSIDOS

En este grupo se engloban antivirales, que parecen ser los más prometedores en el desarrollo de nuevos fármacos anti-influenza debido a las ventajas que presentan como pueden ser su alta barrera a la resistencia, baja citotoxicidad y cobertura de un gran número de virus ARN.

Se incluyen aquellos fármacos con estructura similar a nucleósidos de manera que la ARN polimerasa dependiente de ARN intente incorporarlos a la cadena que está sintetizando, produciéndose así la inhibición de esta enzima. En este grupo encontramos 2 fármacos [5].

5.1.1. FAVIPIRAVIR (T-705)

Su fórmula química es 6-fluoro-3-hidroxi-2-pirazincarboxamida. Se trata de un análogo de nucleósido de purina que tiene como diana la ARN polimerasa dependiente de ARN, lo que le hace tener potente actividad antiviral frente al virus de la gripe, tanto al subtipo A, como el B y el C. Además es activo frente a otros virus ARN como el del ébola. De hecho, en el año 2014 durante el brote de ébola, la OMS publicó una lista de fármacos que se podían utilizar contra dicho virus donde incluyó al favipiravir y de hecho fue utilizado para curar a la mujer española Teresa Romero tras ser infectada por este virus [7,8].

Fue descubierto en 2002 por el laboratorio japonés cuyo nuevo nombre es FUJIFILM Toyama Chemical Co., Ltd., por lo que en Japón fue aprobado en 2014 para tratar pandemias de gripe, mientras que en Estados Unidos estaba en octubre de 2016 en fase 3 de prueba, llevada a cabo por el Departamento de Defensa de los Estados Unidos en colaboración con un laboratorio [6].

A través de diferentes ensayos se vio que el fármaco era activado una vez ya estaba dentro de las células [8]. Es por tanto, un profármaco que se administra por vía oral, llega a intestino donde se absorbe y a continuación es transformado a la forma activa favipiravir mediante nucleosidasas celulares. Además, mediante nucleósido-quinasa puede ser transformado directamente del profármaco a la forma favipiravir-RTP, inhibidor de la ARN polimerasa dependiente de ARN [7]. De esta forma, al ser análogo de nucleósido, es reconocida por la ARN polimerasa por lo que la incorpora a la nueva cadena de ARN que se está sintetizando produciéndose así mutagénesis letal que lleva a la pérdida de capacidad infectiva de los virus (figura 7). Cuando se descubrió este mecanismo de acción se vio que era único hasta el momento, ya que hasta ese momento los antivirales existentes inhibían tanto la entrada como la liberación de nuevas partículas víricas. Esto supuso la existencia de un espectro más amplio de antivirales.

El mecanismo por el que interaccionan favipiravir-RTP con la ARN polimerasa se desconoce por el momento. Además se ha visto que favipiravir-RTP no tiene ningún efecto sobre ADN polimerasas ni sobre ARN polimerasas dependientes de ADN. Esto explica que

tenga actividad principalmente frente a virus ARN [7,8]. Se ha demostrado eficacia del favipiravir-RTP a concentraciones de nanomolar a micromolar [8].

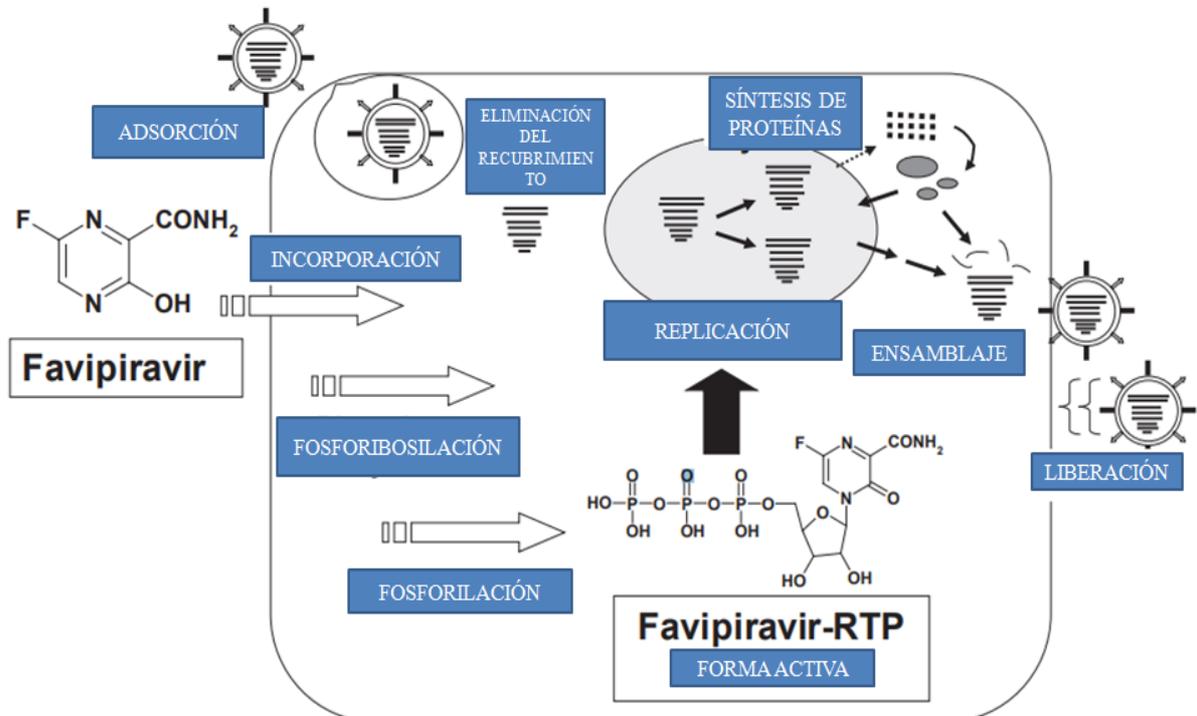


Fig. 7 Mecanismo de acción del favipiravir [8].

Una vez llega el favipiravir, este puede sufrir oxidación en el hígado formando el compuesto M1 de la figura 8, también puede producirse una conjugación en el hígado para formar un glucurónido (M2) como el que se muestra en la misma figura.

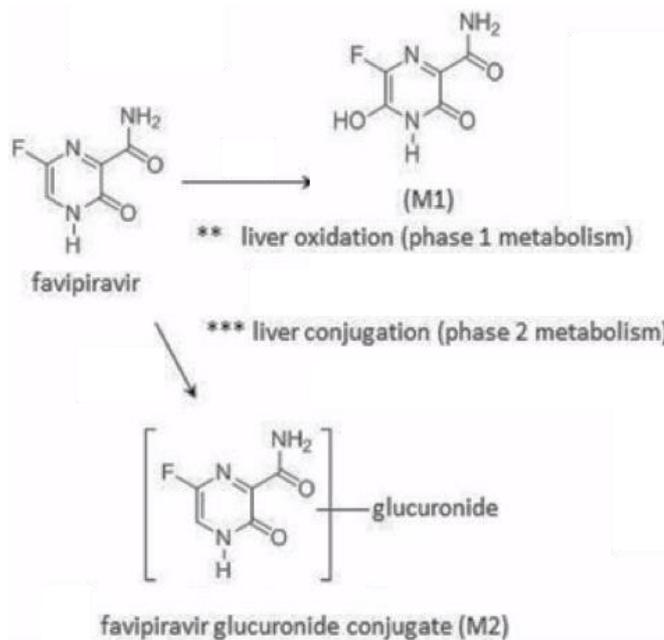


Fig.8. Metabolismo del favipiravir [19].

Al no tener efecto biológico sobre la síntesis de ADN ni ARN, este fármaco tiene menos efectos adversos y es menos tóxico que otros antivirales. Sin embargo favipiravir presenta potencial teratogenicidad y embriotoxicidad [8]. Su actividad es muy intensa en el tracto respiratorio. No hay evidencias de que produzca resistencia y, como se ha mencionado anteriormente, es activo frente a las 3 cepas (A, B y C), así como a los virus resistentes a otros antivirales como los inhibidores de neuraminidasa e inhibidores de la proteína M2 [8]. Esto es debido a que mimetiza un nucleósido.

Se han realizado ensayos en los cuales se combinan el favipiravir con otros antivirales, que presentan diferentes mecanismos de acción para mejorar el efecto terapéutico y reducir la aparición de clones resistentes. En modelo animal se ha demostrado el sinergismo entre favipiravir y oseltamivir, se observó que aumentaba la tasa de supervivencia en ratones infectados con *Influenzavirus*. Por otro lado, en monoterapia, favipiravir ha demostrado superioridad frente al oseltamivir en un modelo animal (ratones). Estos resultados proporcionan más opciones terapéuticas para el tratamiento de epidemias de virus resistentes a otros tratamientos [8].

5.1.2 RIBAVIRINA

Se trata de otro análogo de nucleósido (figura 9), en concreto un nucleósido triazólico sintético cuya fórmula química es 1-,3-D-ribofuranosil-1,2,4-triazol-3-carboxamida, que actúa inhibiendo la ARN polimerasa dependiente de ARN. Se aprobó como un antiviral de amplio espectro. Un aspecto negativo de este fármaco es que sí afecta a la síntesis de ADN y ARN de la célula hospedadora, produciéndose así efectos adversos. Inhibe la replicación viral [5,9].

Al ser de amplio espectro tiene efectividad antiviral frente a virus ADN como el virus del herpes simple 1 y 2, adenovirus, citomegalovirus, virus de la hepatitis B y virus varicela zoster. Además es efectivo frente a virus ARN como el VIH, hepatitis A y C, virus del sarampión, virus de la rubéola y el virus influenza A entre otros. De hecho su principal indicación es el tratamiento de la hepatitis C crónica en combinación con interferón alfa-2b [10]. Se utiliza tanto vía oral como parenteral [10].

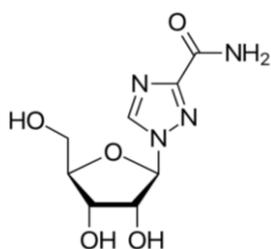


Fig. 9 Estructura de la ribavirina

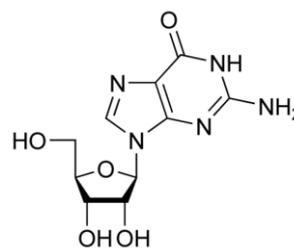


Fig. 10 Estructura de la Guanosina

Hay diferentes mecanismos de acción que explican su acción, el más importante es el que consiste en la inhibición del “capping” o guanilación del ARN mensajero viral, lo que provoca el bloqueo de la traducción del genoma viral [10].

La rivabirina, al ser análogo de guanosina (figura 10) se somete también a fosforilación por quinasas a ribavirina monofosfato y a continuación a difosfato y ribavirina trifosfato, siendo esta última la forma más activa biológicamente, que inhibe enzimas virales impidiendo su replicación. En concreto se observó en el ensayo “*Inhibition of Influenza Virus Ribonucleic Acid Polymerase by Ribavirin Triphosphate*” que la ARN polimerasa viral es selectivamente inhibida por la forma trifosfato de la ribavirina, sin embargo no se vio este efecto con la ribavirina o con su forma monofosfato, ni otras enzimas [9]. La ribavirina trifosfato, además de inhibir la replicación del virus por inhibición de la ARN polimerasa dependiente de ARN, produce inhibición del “capping” del ARN viral y mutagénesis del ARN (figura 11) [17].

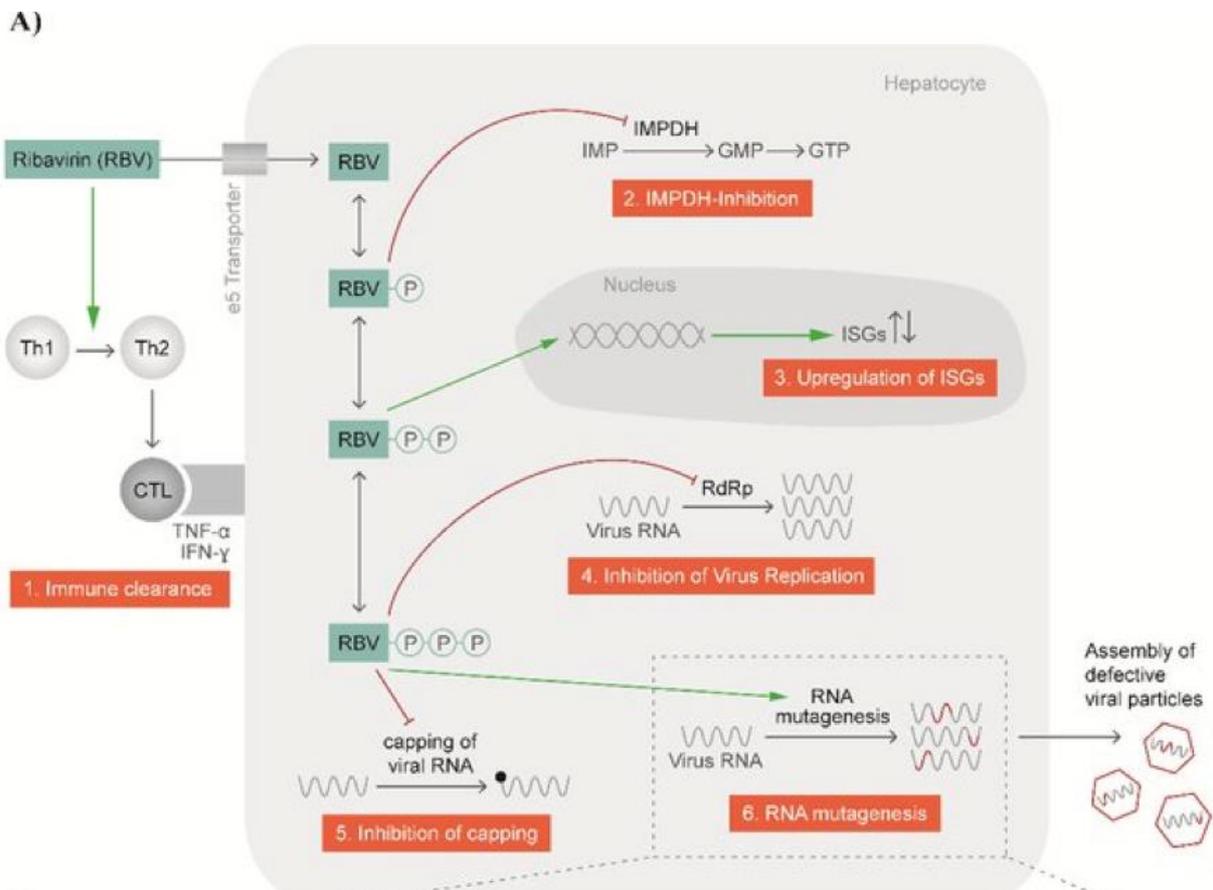


Fig. 11.A. Mecanismo de acción de la ribavirina[17].

El efecto mutagénico de ribavirina trifosfato (RBV-PPP, figura 11), se produce cuando se incorpora a las cadenas nacientes de ARN, y como consecuencia lleva a sustituciones C-U, U-C, G-A o A-G. Además, la ribavirina difosfato (RBV-PP) lleva a cabo regulación positiva sobre los genes estimulados por interferón (ISGs) y la ribavirina además produce

aclareamiento inmunológico actuando sobre los linfocitos T helper 1 y 2 (Th1 y Th2) y sobre los linfocitos T citotóxicos (CTL).

Presenta por tanto, varios mecanismos de acción siendo el más conocido es el que consiste en la inhibición de la inosina-5'-monofosfato deshidrogenasa (IMPDH) por parte de la ribavirina monofosfato. Esta enzima se encarga de transformar la inosina monofosfato (IMP) en guanosina monofosfato (GMP), para luego fosforilarse y transformarse en guanosina trifosfato (GTP). Al ser inhibida dicha enzima se produce una disminución en los niveles de GTP (figura 11) [17].

5.2. INHIBIDORES DE LA PB2

En este grupo se incluyen los antivirales cuyo mecanismo de acción consiste en inhibir la subunidad PB2 del complejo de la polimerasa (figura 12). PB2 inicia la transcripción en el proceso conocido como “*cap-snatching*” que une el extremo C-terminal de la PB2 a la caperuza 7-metilguanosina del extremo 5'-terminal del pre-ARN mensajero de la célula huésped. Estos segmentos de ARN mensajero celular se usan como cebadores en la replicación y transcripción del ARN viral [2].

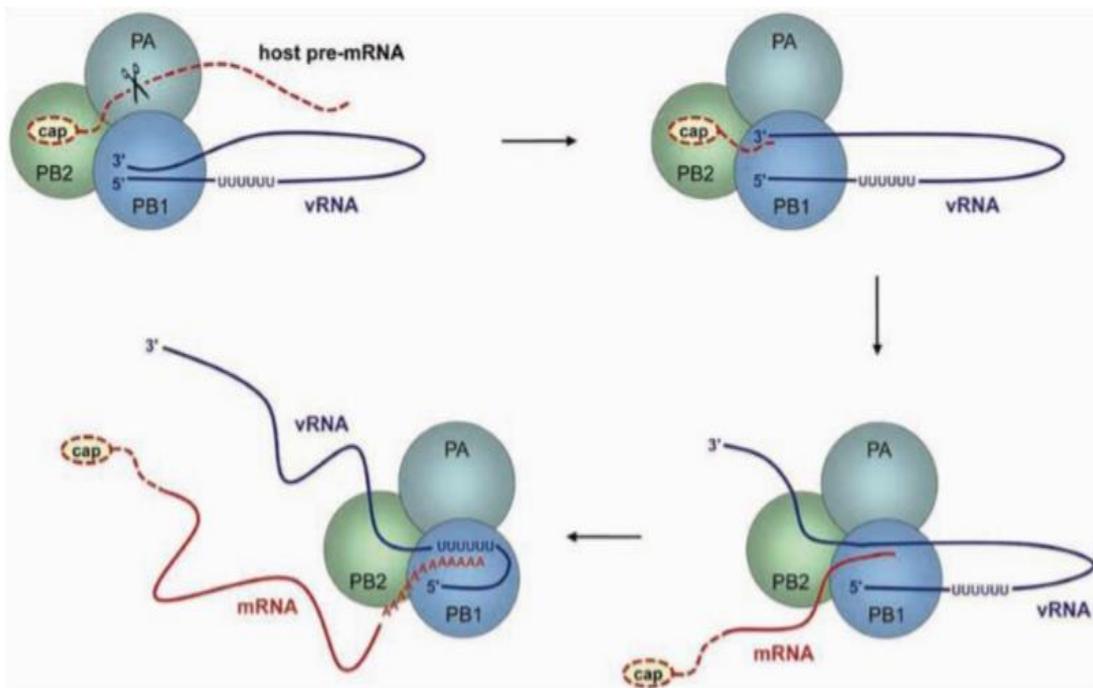


Fig. 12 Mecanismo de la PB2 [2].

En concreto, el proceso de “*cap-snatching*” ocurre en cuatro pasos que se muestran en la figura 13. El primero (A) consiste en la escisión por la PA de un fragmento transcrito que se mantiene unido por “cap” al dominio de unión de cap de la PB2. En el segundo paso (B) se produce la rotación del dominio de unión de cap, lo que lleva al “primer” hacia el centro

catalítico de PB1. A continuación tiene lugar la elongación (C y D), donde el patrón se transloca para ser copiado. Y en el último paso se forma la cola poli-A (E y F).

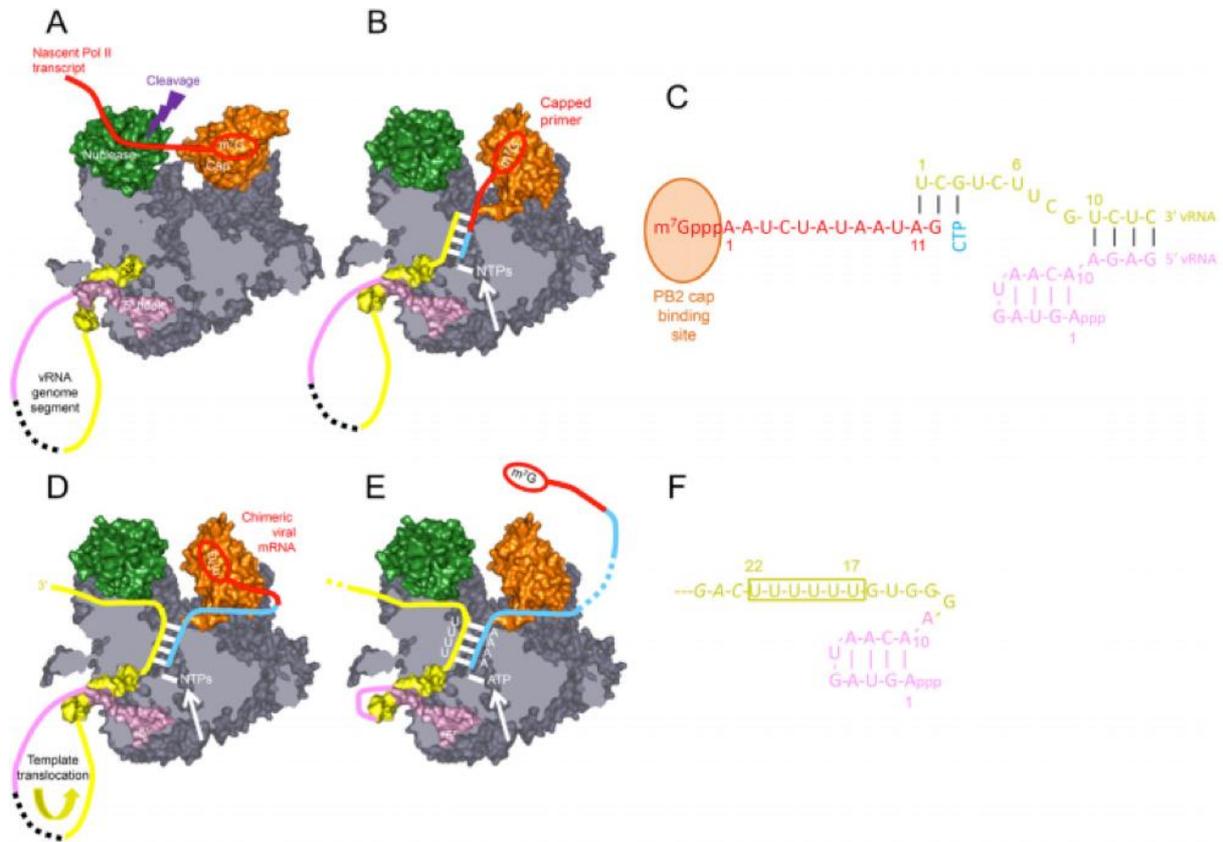


Fig. 13 Proceso de cap-snatching. [18]

5.2.1 PIMODIVIR

Pimovidir (JNJ-63623872 y VX-787, figura 14) fue descubierto por Vertex Pharmaceuticals y está siendo desarrollado por Janssen Pharmaceuticals [6]. Se trata de un inhibidor no nucleosídico, biodisponible por vía oral y que actúa a concentraciones de nanomolar [11].

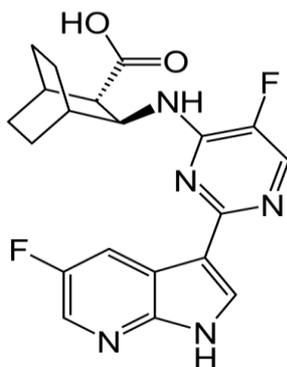


Fig. 14. Estructura de pimovidir

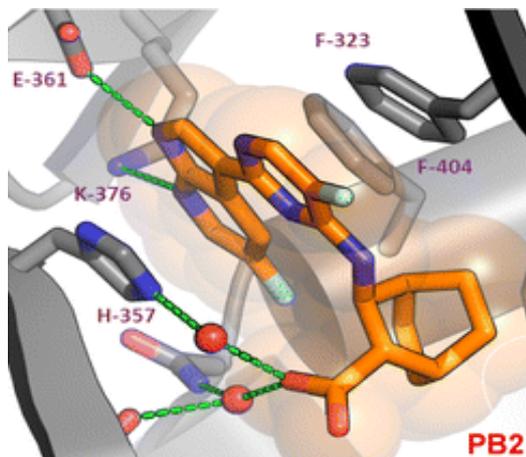


Fig. 15. Sitio de unión del pimovidir a la PB2 [12].

Su diana es un sitio altamente conservado de la subunidad PB2 de la polimerasa viral (figura 15), al unirse a esta, evita que se una a las estructuras de la caperuza 7-metil-GTP de los pre-ARN mensajeros huéspedes, y por tanto no se podrán utilizar como cebadores en la replicación [6].

Es altamente activo frente al *Influenzavirus A*, sin embargo inactivo frente al B debido a diferencias en el bolsillo de unión de la PB2. Demuestra una eficacia superior al oseltamivir. Sin embargo, se han encontrado mutaciones en la PB2 in vitro que producen resistencia al pimodivir, en concreto estas variantes presentan una sensibilidad al pimodivir reducida 250 veces manteniéndose la sensibilidad a inhibidores de la neuraminidasa. Esto sugiere que la combinación de ambos limita la aparición del virus [6].

Actualmente el pimodivir se encuentra en una fase tardía de desarrollo para la infección por el virus de la Influenza A y ha recibido una designación de vía rápida por la FDA (Food and Drug Administration) debido a su potencial para abordar una necesidad no satisfecha en el tratamiento de la Influenza [11].

5.2.2 D715-2441

Debido a la prevalencia de virus resistentes a los antivirales ya existentes, surge la necesidad de encontrar nuevos fármacos efectivos y de baja toxicidad frente al virus de la Influenza A. 1,3-dihidroxi-6-benzo[c]cromeno (D715-2441), (figura 16) posee actividades antivirales contra múltiples subtipos de cepas de virus de influenza A (IAV) y en concreto se vio que era eficaz frente a virus resistentes a oseltamivir.

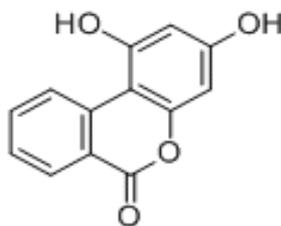


Fig. 16 Estructura del D715-2441. Tomada de: http://www.probechem.com/products_D715-2441.aspx

En un principio se esperaba conocer de manera detallada el mecanismo inhibitorio del fármaco durante el ciclo vital del virus y para ello se estudió si este compuesto tenía efecto en la entrada del virus o en la liberación de nuevas partículas víricas, sin embargo se observó que no ejercía ningún efecto ni en la entrada ni en la liberación.

Se creyó entonces que D715-2441 debía ejercer su acción inhibitoria a través de otros mecanismos, en concreto se pudo comprobar que actúa como un competidor por el sitio de unión. Después de estudios se confirmó que interfiere con el dominio conservado de unión de cap de la subunidad PB2 de la polimerasa, impidiendo la replicación del virus. En concreto, se une al ARN viral y a continuación se une a la subunidad PB2 impidiendo su actividad normal como se muestra en la figura 17. De esta manera el virus no puede replicar su material genético. En concreto se comprobó que D715-2441 se une a la subunidad mediante algunos aminoácidos como los siguientes: His357, Phe323, Phe404, Glu361 y Lys376.

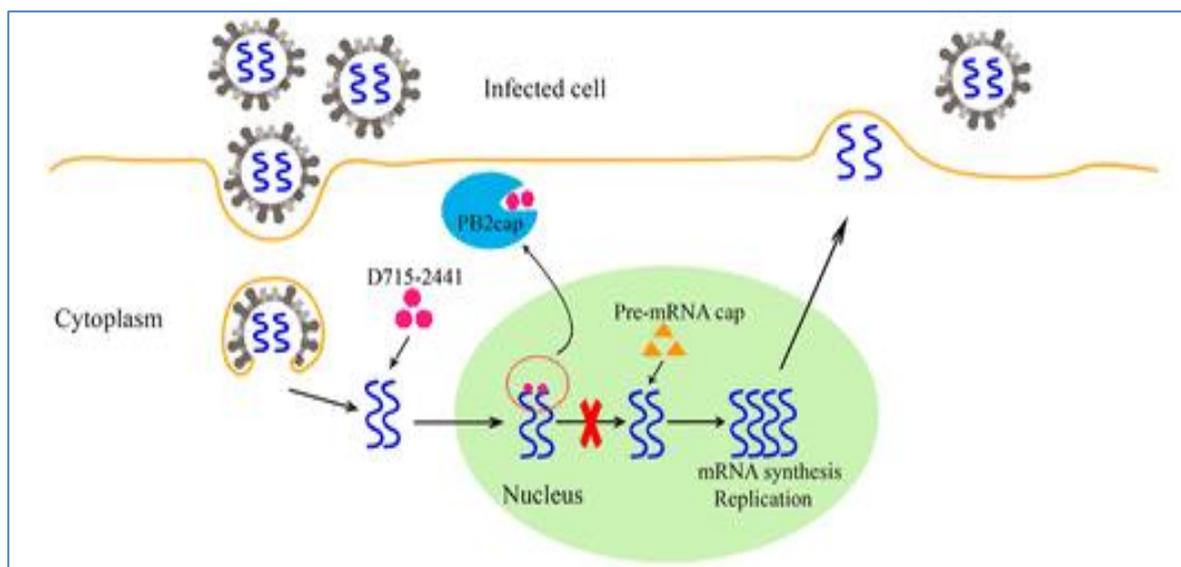


Fig. 17 Mecanismo de acción del D715-2441 [13].

Aún así se debe estudiar más sobre su mecanismo de acción. Se cree también que este compuesto actúa de manera dosis-dependiente. Además se ha visto que la combinación de este fármaco con zanamivir, que se trata de un inhibidor de la neuraminidasa usado en profilaxis y tratamiento del *Influenzavirus*, tiene un marcado sinérgico poder antiviral. Esto podría suponer una opción eficaz para quimioprofilaxis y tratamiento de la gripe.

Estos hallazgos proporcionan una nueva estrategia para el diseño de fármacos de amplio espectro [13]. Este fármaco tiene un buen potencial como un candidato prometedor contra la infección por *Influenzavirus* [13].

5.3. TRATAMIENTO DEL VIRUS DE LA INFLUENZA B

El virus de la *Influenza B* es el menos estudiado en relación con otras cepas, además produce numerosas muertes al año, especialmente en niños. Esto se debe en parte a la baja efectividad de antivirales frente a esta cepa de *Influenza*, y por ello es necesario explorar nuevas opciones para tratarlo [14].

Por esto ha surgido una nueva opción terapéutica, que consiste en anticuerpos monoclonales cuyas dianas son distintas proteínas del virus. En distintos ensayos clínicos ya se ha visto cómo algunos anticuerpos monoclonales se dirigen a la hemaglutinina de virus de la cepa A. Además, en un estudio de octubre de 2017 se explica cómo desarrollaron anticuerpos monoclonales cuya diana es la neuraminidasa de virus Influenza B, y demuestran que se previene la mortalidad en ratones a los que se ha inoculado virus B [14].

Estos anticuerpos actúan de dos maneras, la primera consiste en que estos anticuerpos se unen directamente a la neuraminidasa de los virus e inhiben su actividad. También puede ser por bloqueo estérico como se indica en la figura 18.

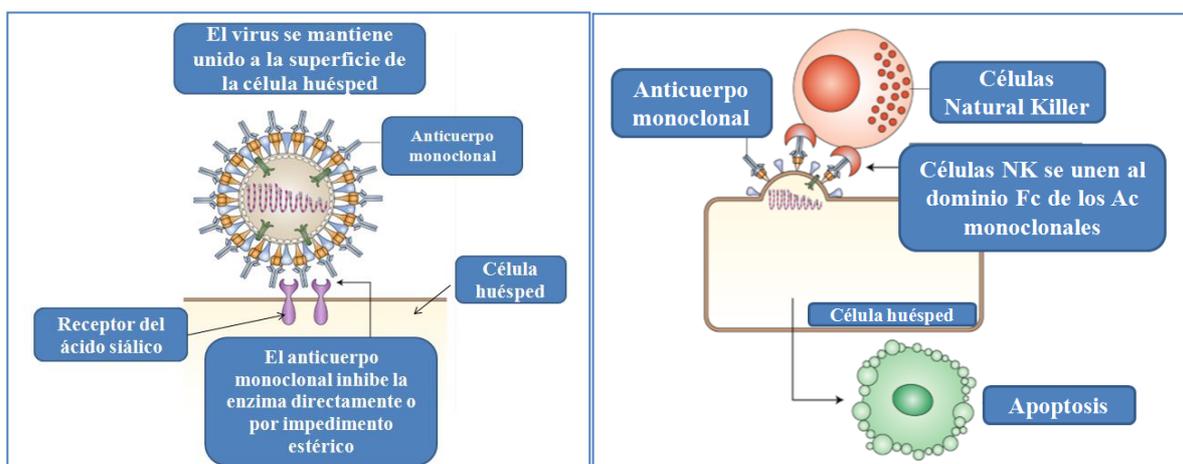


Fig. 18 Mecanismo 1 de los anticuerpos monoclonales [14]. Fig. 19 Mecanismo 2 de los anticuerpos monoclonales[14].

En la segunda manera los anticuerpos se unen a la neuraminidasa de los virus que se están liberando de las células huésped infectadas. A continuación células como las Natural Killer, neutrófilos y monocitos se unen a la región Fc de los anticuerpos desencadenando la liberación de gránulos citotóxicos y citoquinas antivirales que matan a las células infectadas con el virus como se observa en la figura 19 [14].

Por el momento sólo se han hecho ensayos en algunos animales, sin embargo habría que validar los beneficios in vivo de la terapia con estos anticuerpos monoclonales en más animales, aunque parece que solo servirían para tratar a pacientes tratados en los 2 primeros días de la infección, puesto que después el efecto disminuye. Esto podría mejorar si se combinaran los anticuerpos monoclonales con otros fármacos antivirales [14].

Aunque el *Influenzavirus* A siga siendo el foco a la hora de buscar antivirales, parece esperanzador que se desarrollen tratamientos frente a la cepa B, ya que sigue siendo un gran causante de muerte de niños [14].

6. CONCLUSIONES

A pesar de la gran variedad de antivirales existentes, son muchas las resistencias que han aparecido lo que hace que en muchos casos no sean efectivos los tratamientos. Por eso es realmente importante el desarrollo de nuevos fármacos basados en nuevas dianas. Estos, los inhibidores de la ARN polimerasa dependiente de ARN, parecen ser muy prometedores y creo que es necesario seguir investigando este campo ya que están logrando los resultados esperados.

Además, se ha demostrado que hay otros factores celulares que interactúan con la polimerasa del virus y podrían afectar al comportamiento de estos inhibidores, por lo que considero que habría que explorar más este campo puesto que podría suponer ventajas para el tratamiento si se conocen todos estos factores.

También es necesario ampliar el estudio sobre nuevos tratamientos frente a la cepa B de *Influenza*, puesto que casi todos los estudios y ensayos realizados son frente a inhibidores de las cepas A o C, especialmente la A.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Ortín J. Biología molecular del virus de la gripe. Monogr la Real Acad Nac Farm [Internet]. 2006; 0(0). Available from: <http://www.analesranf.com/index.php/mono/article/view/585>
2. María M. El virus de la gripe : Patógeno emergente y reemergente. 2014;(October):1–57. Available from: http://gredos.usal.es/jspui/bitstream/10366/123857/1/El_Virus_de_la_Gripe.pdf
3. Análisis estructural de la ribonucleoproteína nativa del virus de la gripe. 2013; Available from: <file:///C:/Users/Usuario/Desktop/Introducción%20TFG/General-%20ANÁLISIS%20ESTRUCTURAL%20DE%20LA%20RIBONUCLEOPROTEÍNA%20NATIVA%20DEL%20VIRUS%20DE%20LA%20GRIPE.pdf>
4. Cuestas EJ. PREDICTIBILIDAD DE LA PROPAGACIÓN ESPACIAL Y TEMPORAL DE LA EPIDEMIA DE INFLUENZA A H1N1 EN ARGENTINA. 2013; 1–123. Available from: file:///C:/Users/Usuario/Desktop/cuestas_eduardo_jose.pdf
5. Wu X, Wu X, Sun Q, Zhang C, Yang S, Li L, et al. Progress of small molecular inhibitors in the development of anti-influenza virus agents. Theranostics [Internet]. 2017 [cited 2019 Jan 23]; 7(4):826–45. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28382157>
6. Shaw ML. The Next Wave of Influenza Drugs. ACS Infect Dis. 2017; 3(10):691–4.
7. Reina J. Revisión Favipiravir, un nuevo concepto de fármaco antiviral frente a los virus gripales. 2017; 30(2):79–83.
8. Yousuke B. Favipiravir (T-705), a broad spectrum inhibitor of viral RNA polymerase. 2017;

- 93(7). Available from: <https://www.mendeley.com/catalogue/favipiravir-t705-broad-spectrum-inhibitor-viral-rna-polymerase/>
9. Eriksson B, Helgstrand E, Johansson NG, Larsson A, Misiorny A, Norén JO, et al. Inhibition of influenza virus ribonucleic acid polymerase by ribavirin triphosphate. *Antimicrob Agents Chemother.* 1977; 11(6):946–51.
 10. CECMED. RESUMEN DE LAS CARACTERÍSTICAS DEL PRODUCTO. Available from: https://www.cecmec.com/sites/default/files/adjuntos/rcp/m15133j05_ribavirina-400.pdf
 11. Finberg RW, Lanno R, Anderson D, Fleischhackl R, Duijnhoven W Van, Kauffman RS, et al. Phase 2b Study of Pimodivir (JNJ-63623872) as Monotherapy or in Combination With Oseltamivir for Treatment of Acute Uncomplicated Seasonal Influenza A : TOPAZ Trial. 2018; 08560:1–9.
 12. Clark MP, Ledebroer MW, Davies I, Byrn RA, Jones SM, Perola E, et al. Discovery of a Novel, First-in-Class, Orally Bioavailable Azaindole Inhibitor (VX-787) of Influenza PB2. 2014;
 13. A small-molecule compound has anti-influenza A virus activity by acting as a “ PB2 inhibitor”. (2018).
 14. Hurt AC, Subbarao K. New options to treat influenza B. *Nat Microbiol* [Internet]. 2017; 2(10):1342–3. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41564-017-0027-0>
 15. Abenavoli L, Mazza M, Almasio PL. The optimal dose of ribavirin for chronic hepatitis C: From literature evidence to clinical practice. *Hepat Mon.* 2011;11(4):240–6.
 16. Naesens, L; Stevaert, A; y Vanderlinden, E. (2016). *Antiviral therapies on the horizon for influenza*. Recuperado de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1471489216300881#bib0510>
 17. Todt, Daniel; Walter, Stephanie; Brown, Richard J.P.; Steinmann, Eike. Mutagenic effects of ribavirin on hepatitis E virus-viral extinction versus selection of fitness-enhancing mutations. (2016).
 18. Alexander Pflug, Maria Lukarska, Patricia Resa-Infante, Stefan Reich, Stephen Cusack. Structural insights into RNA synthesis by the influenza virus transcription-replication machine. (2017).
 19. Sandra L. Bixlera , Thomas M. Bocana , Jay Wellsa , Kelly S. Wetzela , Sean A. Van Tongerena , Nicole L. Garzaa , Ginger Donnellya , Lisa H. Cazaresa , Veronica Solovevaa , Lisa Welcha,b , Carol Epsteinb , Li-Fang Liangb , Dennis Giesingb , Robert Lenkb , Sina Bavaria , Travis K. Warren. Intracellular conversion and in vivo dose response of favipiravir (T-705) in rodents infected with Ebola virus. (2017).

PÁGINAS WEB UTILIZADAS:

1. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>

2. <https://newdrugapprovals.org/tag/pimodivir/>
3. http://www.probechem.com/products_D715-2441.aspx
4. <http://www.microbiologiaysalud.org/noticias/favipiravir/>
5. <http://www.microbiologiaysalud.org/noticias/tratamiento-experimental-con-favipiravir-para-la-enfermedad-por-el-virus-ebola/>