

DISEÑO DE FÁRMACOS ANTIVIRALES BASADOS EN EL COMPLEJO DE LA POLIMERASA DEL VIRUS DE LA GRIPE

AUTORA: Dña. María González Sánchez. TUTORA: Dra. Dña. Carmen Pedregal Freire.
Trabajo de Fin de Grado, febrero 2019. Departamento de Química en Ciencias Farmacéuticas.
Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid.



INTRODUCCIÓN:

La gripe es una enfermedad respiratoria aguda debida a una infección producida por la familia *Orthomyxoviridae*, que afecta tanto a aves como a mamíferos. Existen 5 géneros, pero los dos más importantes son el virus de la gripe A, que es el que afecta mayoritariamente a los humanos, y el virus de la gripe B, que también se puede encontrar. El virus está compuesto por diferentes moléculas:

- **Envuelta lipídica** – Está formada por las moléculas de la membrana de la célula hospedadora.
- **Parte interna de la envuelta** – Tiene una serie de proteínas:
 - **Proteína de membrana o matriz 1 (M1)**: estabilidad del virión.
 - **Hemaglutinina (H)**: unión y penetración del virus en la célula hospedadora.
 - **Neuraminidasa (N)**: difusión y liberación de las partículas víricas maduras.
 - **Proteína de membrana 2 (M2)**: tetrámero que forma el canal iónico para la entrada de H^+ .
 - **Nucleocápside**: contiene los complejos formados por RNA unido a 4 proteínas, que son el complejo de polimerasa viral (compuesta por 3 subunidades) y la nucleoproteína (NP).
 - **Nucleoproteína (NP)**: encapsidación, y es esencial en la replicación y transcripción viral.
 - **RNA polimerasa RNA-dependiente**: compuesta por la proteína básica 1 (PB1), proteína básica 2 (PB2) y la proteína ácida (PA).

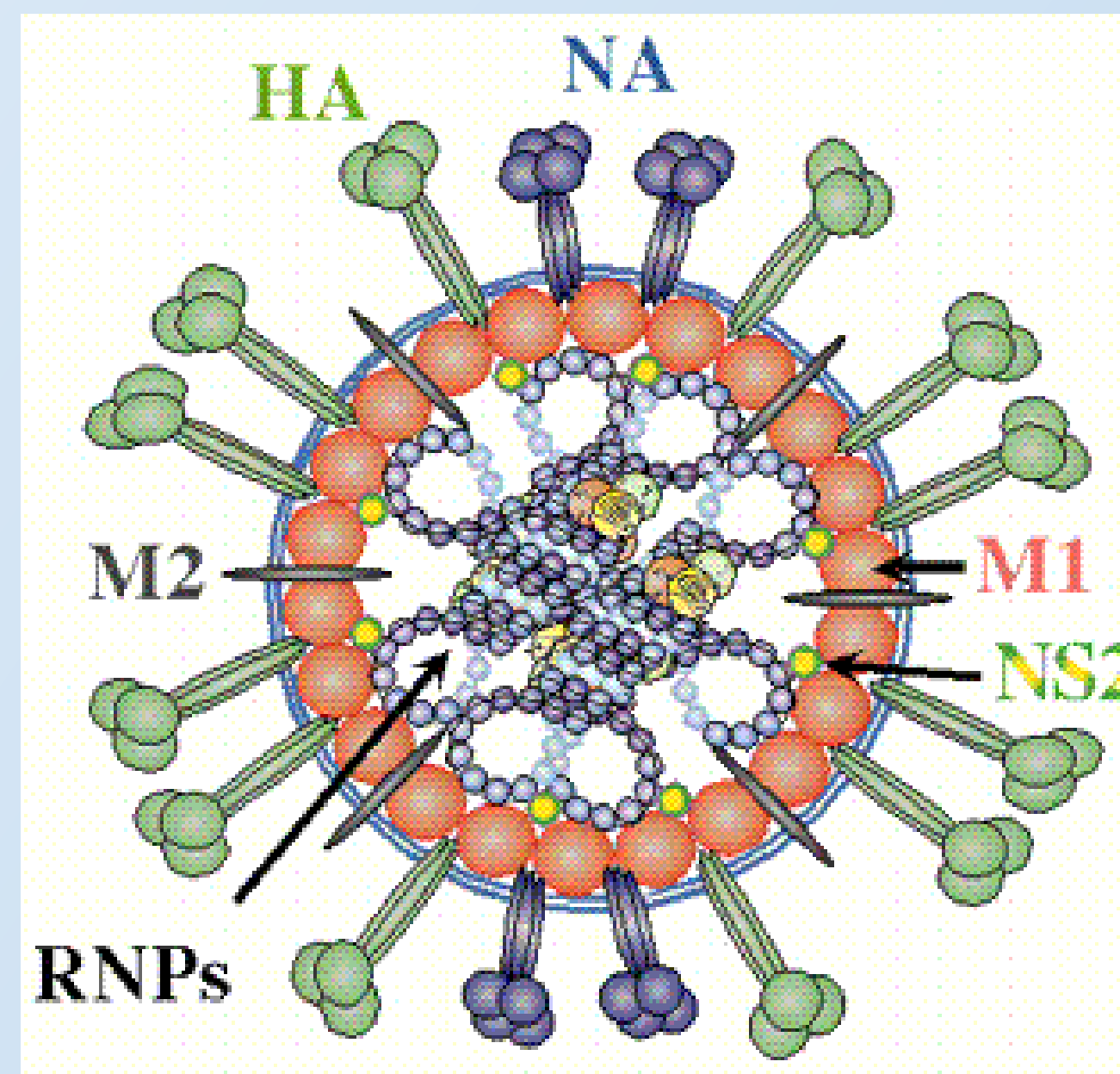


Fig 1. Estructura del Influenzavirus (4).

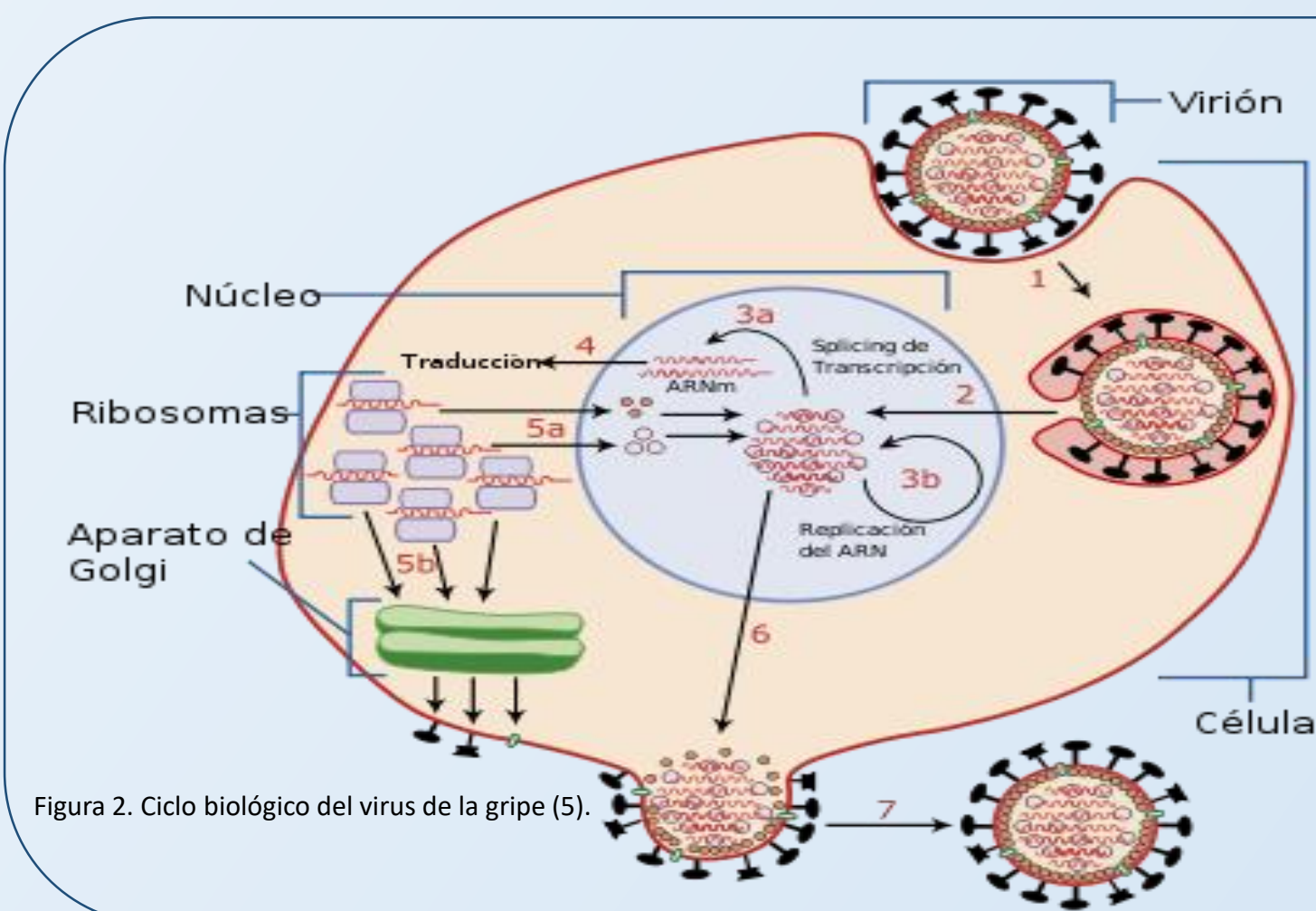


Figura 2. Ciclo biológico del virus de la gripe (5).

OBJETIVO:

Revisión bibliográfica de los fármacos contra la gripe cuya diana es alguna de las proteínas implicadas en la replicación viral (PA, PB1, PB2 o NP) así como comprobar el funcionamiento de la RNA polimerasa RNA-dependiente.

METODOLOGÍA:

Utilización de revisiones como *New England Journal of Medicine*, *Nature*, plataformas como *PubMed*, *NCBI* (National Center of Biotechnology Information), *EMBL* (European Molecular Biology Laboratory) y la página de *American Chemical Society*.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN:

La replicación del virus se lleva a cabo en dos etapas, y es necesario que haya un RNA de sentido positivo para que se pueda generar nuevamente el RNA de sentido negativo. Los segmentos generados pueden servir de molde para la producción de nuevas proteínas o unirse a la nucleoproteína (NP) para ser ensamblados en nuevos viriones.

La **proteína ácida endonucleasa (PA)** se encarga de procesar los premensajeros de RNA para que sirvan como cebadores. Esta enzima consta en su centro activo de una bolsa hidrófoba con cargas negativas y dos iones divalentes de carga positiva. La mayoría de las moléculas que se han probado como inhibidores funcionan como quelantes de estos cationes.

De acuerdo a su estructura química, encontramos diferentes familias:

- Derivados diceto-ácidos.
 - Derivados de flutimida (2,6-dicetopiperacina).
 - Heterociclos hidroxilados.
 - Derivados de catecol.
 - **Ácido 2,3-dihidroxibenzoico y bioisómeros** – El más importante es el *Baloxavir*, que es el único fármaco comercializado.
 - PA-30 y ANA-0 – Son moléculas que se unen a sitios alostéricos de la enzima.
- Todos estos grupos contienen en su estructura grupos con carga negativa, que son los que quelan los cationes, y anillos aromáticos, que se introducen en el bolsillo hidrofóbico de la enzima.

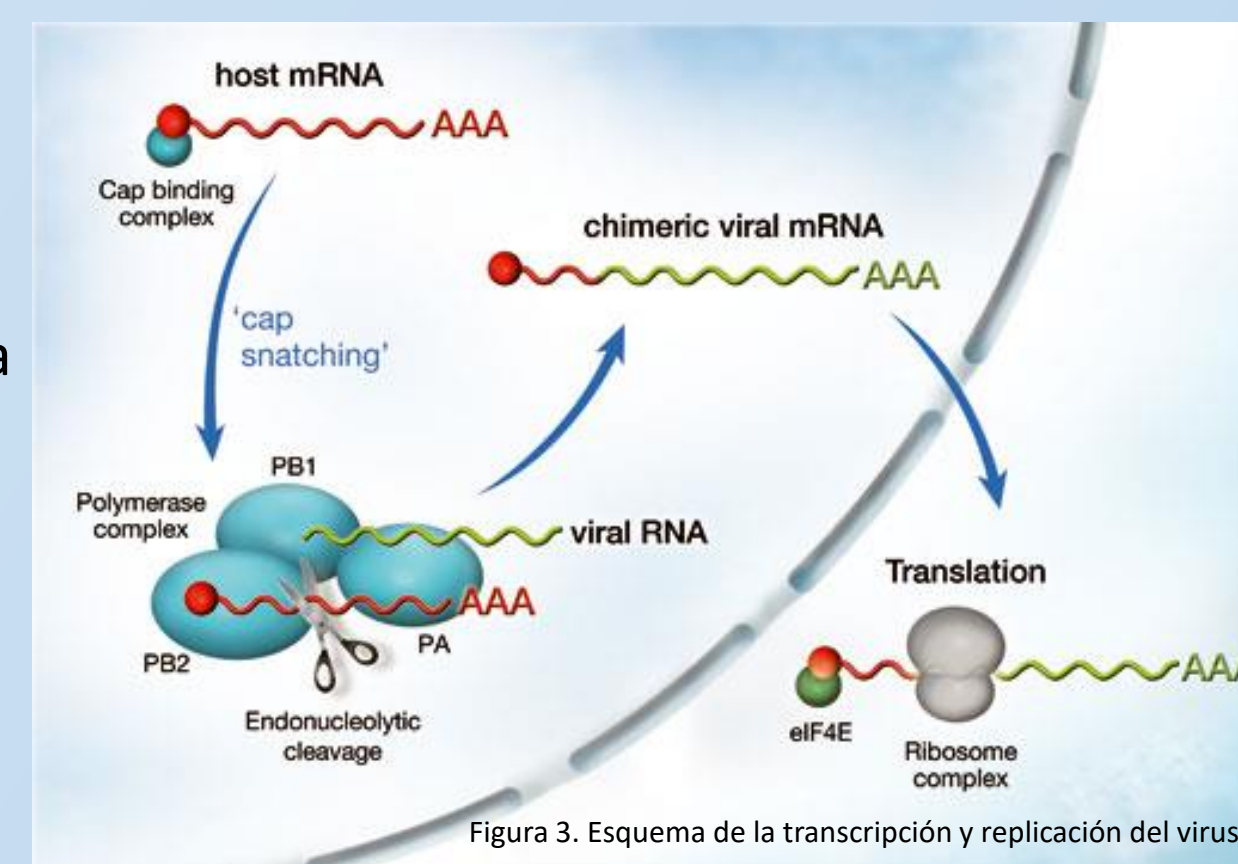


Figura 3. Esquema de la transcripción y replicación del virus (6).

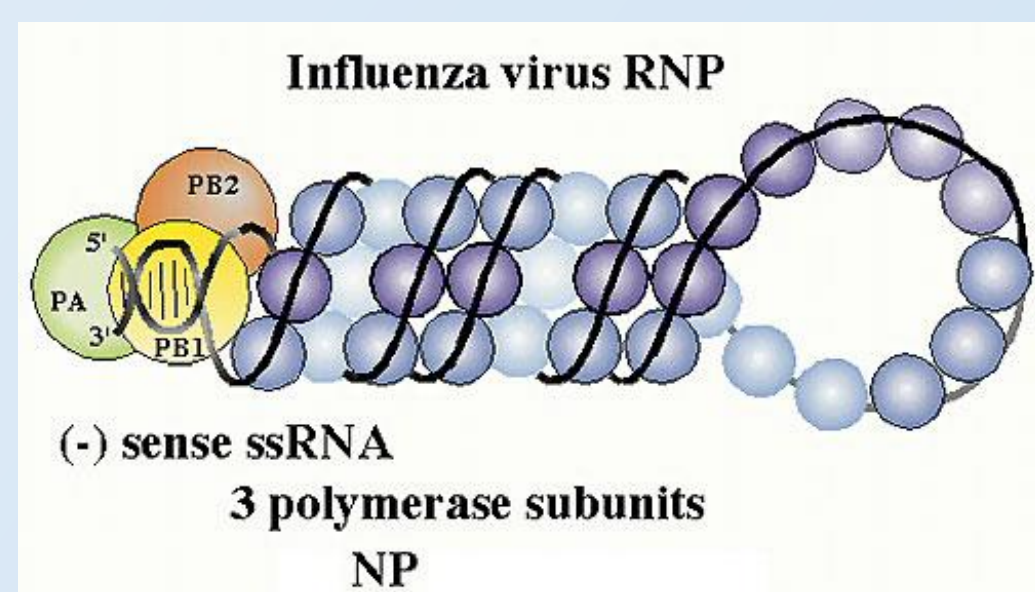


Figura 5. Representación de la RNP (NP en azul) (2).

La **nucleoproteína (NP)** tiene función estructural, ya que está involucrada en el empaquetamiento del RNA, en el tráfico nuclear de las ribonucleoproteínas (RNPs) y en la replicación del RNA. Los inhibidores de esta proteína se han identificado por métodos genéticos químicos, y existen diferentes clases de inhibidores:

- Dirigidos al bolsillo de unión de la cola y el bucle.
- Nucleozina y análogos – Necesitan un puente de hidrógeno y un enlace hidrofóbico.
- Dirigidos al surco de unión del RNA – Mediante interacciones iónicas, son compuestos que compiten con el RNA.
- Inhibición de la actividad de las RNPs – Restringiendo la exportación de NP desde el núcleo por unión a la NP.

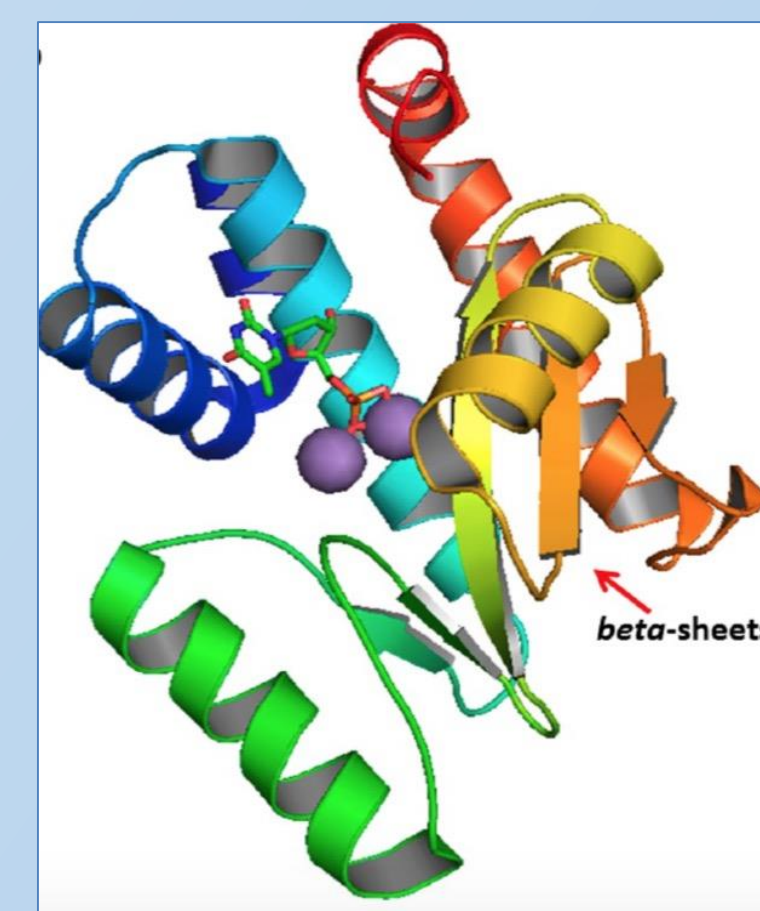
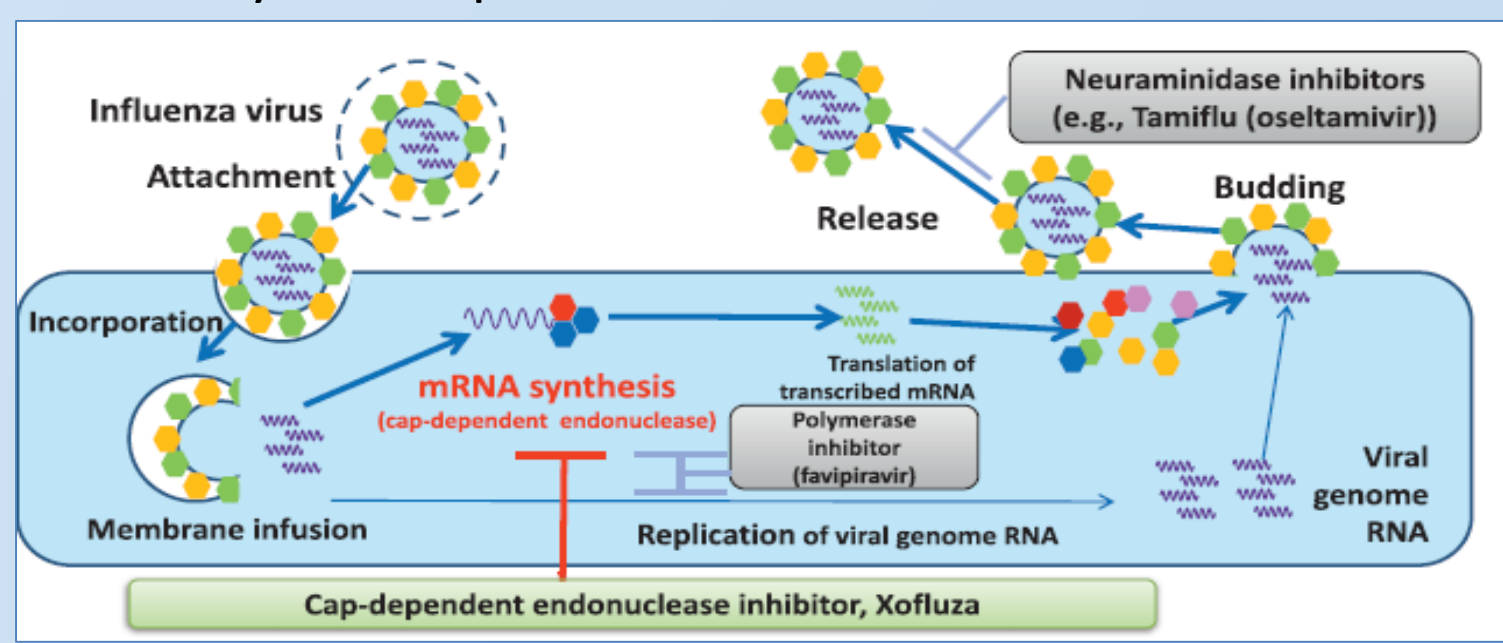
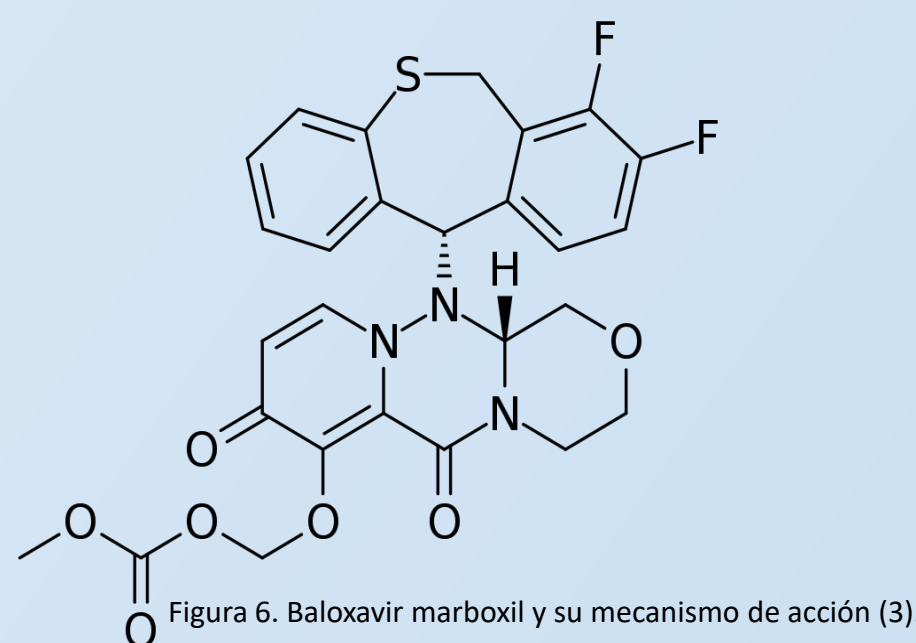


Figura 4. Representación de la endonucleasa con los cationes divalentes (morado) (1).

XOFLUZA® - Baloxavir marboxilo.

Es la única molécula (S-033188) que se encuentra comercializada, habiendo sido aprobada en octubre de 2018 por la FDA, y es un **inhibidor selectivo de la proteína ácida con actividad endonucleasa**.

Su diseño ha sido realizado mediante diseño molecular racional, de manera que una parte de la molécula produce la quelación de los metales mediante una coordinación octaédrica y la otra parte interactúa con el bolsillo hidrofóbico de la enzima.



Se han encontrado variantes polimórficas en distintas posiciones de la enzima, pero la más importante es la **I38**, ya que es la que conduce a una reducción en la eficacia del fármaco.

Es un fármaco de administración oral en una única dosis. Los **estudios no clínicos** han demostrado que es eficaz frente a una amplia variedad de cepas, y los **ensayos clínicos** han demostrado que es seguro y bien tolerado, eficacia similar en comparación con oseltamivir y un perfil de efectos secundarios similar al placebo.

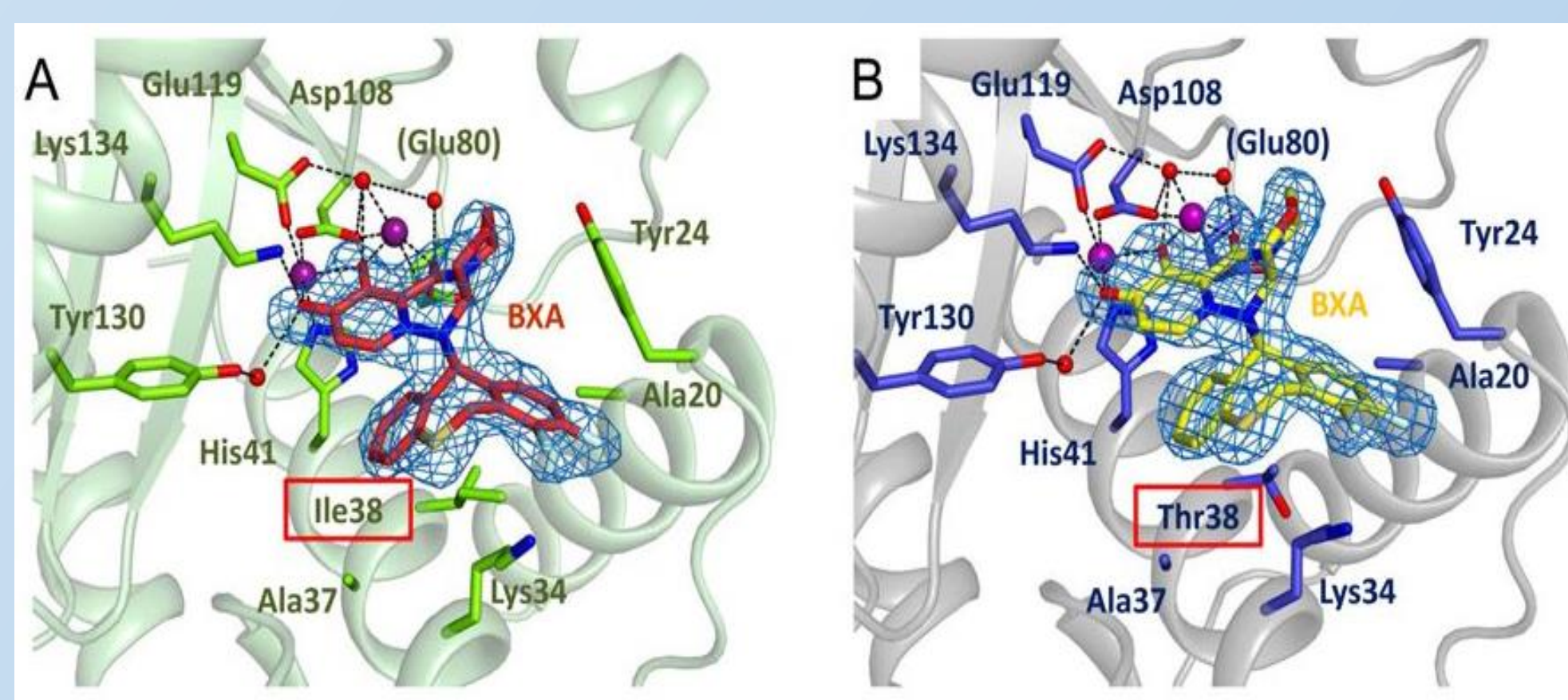


Figura 7. Mecanismo a nivel molecular del baloxavir con la enzima salvaje y con la enzima mutada en la posición I38 (3).

CONCLUSIONES.

- La efectividad de las vacunas es limitada (sólo para pacientes inmunocompetentes) y reducida (cada vez aparecen más mutaciones) → **necesidad de fármacos nuevos y eficaces**.
- Los medicamentos ya comercializados presentan cada vez más resistencia, y no se pueden utilizar como profilaxis → **necesidad de fármacos nuevos y eficaces**.
- Todavía existen muchas moléculas en estudio, de las cuales sólo algunas podrán llegar a ensayos clínicos, y muy pocas serán comercializadas → **necesidad de seguir estudiando el virus**.

BIBLIOGRAFÍA.

1. Ju, H., Zhang, J., Huang, B., Kang, D., Huang, B., Liu, X., Zhan, P. Inhibitors of influenza virus polymerase acidic (PA) endonuclease: contemporary developments and perspective. *Journal of Medicine Chemistry* 2017, 60 (9), 3533-3551.
2. Hu, Y., Sneyd, H., Dekant, R., Wang, J. Influenza A virus nucleoprotein: a highly conserved multi-functional viral protein as a hot antiviral drug target. *Curr Top Med Chem* 2017, 17 (20): 2271-2285.
3. Omoto, S., Speranzini, V., et al. Characterization of influenza virus variants induced by treatment with the endonuclease inhibitor Baloxavir Marboxil. *Scientific Reports*, published online 25 June 2018.
4. Nayak, D., Shivakoti, S., Balogun, R.A., Lee, G., Zhou, Z.H. 2013. Structure, disassembly, assembly and budding of influenza virus. In *R.G.W. FRS, A.S.M. MD, T.J.B. MD, R.A.L. ScD (Eds). Textbook of Influenza* (p.35-56).
5. Matsouka, Y., Matsumae, H., Katoh, M. et al. A comprehensive map of the influenza A virus replication cycle. 2th October 2013. *Biomed Central Systems Biology*.
6. Dias, A., Bouvier, D., Crépin, T., McCarthy, A.A., Hart, D.J., Baudin, F., Cusack, S., Ruigrok, R.W. (2009). The cap-snatching endonuclease of influenza virus polymerase resides in the PA subunit. *Nature* 458: 914-918.