



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO
TÍTULO: C-NUCLEÓSIDOS.
Actividades terapéuticas potenciales**

Autor: Marta Vaquerizo Gadea

Tutor: Maria Loreto Salazar Martinez de Pisón.

Convocatoria: Junio

OBJETIVOS.

Conocer a los C-nucleósidos, sus ventajas y la situación actual como fármacos en desarrollo clínico.

MATERIAL Y MÉTODOS.

Revisión bibliográfica de publicaciones científicas obtenidas a partir de la base de datos de Medline (Pubmed)

INTRODUCCIÓN.

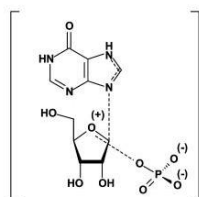
La mayoría de fármacos en uso clínico y comercializados que son análogos de nucleósidos presentan una estructura clásica. Mantienen el enlace N-glucosídico, es decir, la base nitrogenada (púrica o pirimidínica) se une al azúcar (ribosa o 2-desoxirribosa) a través de un nitrógeno. Por lo tanto, este tipo de fármacos son N-nucleósidos.

En este trabajo hablamos de los C-nucleósidos, análogos de los nucleósidos, en los que el azúcar se une a un carbono de la base nitrogenada, en vez de a un nitrógeno.

Hay un tipo de enzimas, las fosforilasas, que degradan los nucleósidos al romper su enlace N-glucosídico. Sin embargo, el enlace C-glucosídico es más resistente frente a esta fosforolisis.

Las fosforilasas de nucleósidos han sido estudiadas en los últimos años, ya que su acción modifica el perfil de actuación de los nucleósidos, al producir su degradación, y su inhibición tendría aplicación terapéutica antimicrobiana y antitumoral.

Por lo tanto, los C-nucleósidos presentan una ventaja sobre los N-nucleósidos al presentar mayor resistencia a la degradación, lo que supone una mayor actividad farmacológica¹.



Purine nucleoside phosphorylase (PNP) transition site

Los C-nucleósidos más importantes en la actualidad son el imino-C-nucleósido BCX4430 para el tratamiento del virus del Ébola y el GS-6620, un profármaco de C-nucleósido para el tratamiento de la hepatitis C. Ambos están en estudios clínicos. En este trabajo hablaremos de su situación actual al igual que hablaremos de otras potencialidades terapéuticas de otros C-nucleósidos que se encuentran en investigación.

Químicamente, los C-nucleósidos contienen una función aminoaza, como la adenina, o una función carboxamido o imido, como la ribavirina. Estas funciones químicas son esenciales para darles a los C-nucleósidos una actividad antiviral de amplio espectro.

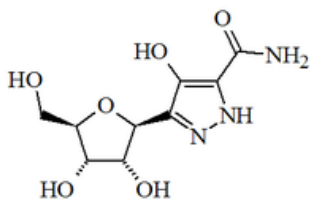
También se introducen grupos químicos que confieren selectividad, como el grupo 2'-C-metilo que es específico para la actividad anti-VHC.

Los C-nucleósidos son conocidos desde 1975, cuando se habló por primera vez de la pirazofurina. En esa época no era posible introducir todas las modificaciones estructurales para mejorar la eficacia, la seguridad, el espectro de actividad y hacer nuevos profármacos como en la actualidad¹.

Así que nos encontramos con moléculas del pasado, que están siendo actualmente estudiadas, por su potencialidad para mejorar la terapéutica del futuro.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Pirazofurina.



Es el C-nucleósido más conocido, ya mencionado en 1975.

La pirazofurina (3-β-d-ribofuranosil-4-hidroxi-pirazol-5-carboxamida) es uno de los tres C-nucleósidos biológicamente activos aislados del cultivo de *Streptomyces candidus*. Los otros C-nucleósidos son Pirazofurina B (el anómero α) y Oxazinomicina (minimicina).

Los α - y β -anómeros de la pirazofurina se convierten entre sí en condiciones suaves. El anómero α posee poca actividad biológica².

La pirazofurina produce la inhibición de la biosíntesis de novo de nucleósidos de pirimidina, por lo que tiene actividad antiviral y antitumoral, siendo esta última más estudiada.

La adenosina quinasa activa a la pirazofurina mediante fosforilación. La diana del monofosfato de pirazofurina es la UMPsintasa, que es una enzima con dos actividades enzimáticas, las cuales son orotato fosforribosil transferasa y OMP descarboxilasa.

Esta molécula fue estudiada in vitro como inhibidor del *Plasmodium falciparum*, pero nunca se llegó a desarrollar como fármaco.

La OMP descarboxilasa sigue siendo una posible diana terapéutica contra la malaria que nos lleva a no subestimar la importancia de un compuesto simple como la pirazofurina, fácilmente modificable químicamente, como antiparasitario.

En la época del descubrimiento de la pirazofurina, la ribavirina fue considerada el nucleosido antiviral de amplio espectro, y en el año 2000 se consolidó al usarse como tratamiento de elección junto al interferón pegilado en la hepatitis C. Este hecho hizo que se descartaran otros antivirales con potencialidad de convertirse en antivirales de amplio espectro, como es el caso de la pirazofurina. Sin embargo, la pirazofurina tenía una potencia antiviral mayor que la ribavirina, mostrando actividad contra el virus de la estomatitis vesicular y muchos otros ARNvirus¹.

La replicación del virus de la estomatitis vesicular es similar a la replicación del virus del Ébola, de hecho, ambos virus tienen una diana terapéutica común, la enzima SAH hidrolasa. Por lo tanto, el brote de hace unos años del virus del Ébola, ha dado importancia a la pirazomicina, debido a su actividad frente al virus de la estomatitis vesicular y su potencialidad frente a ARNvirus³.

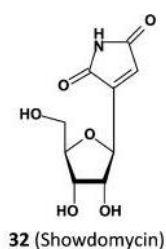
Showdomicina

Aunque la bacteria *Streptomyces* se conoce hace muchos años, la base molecular para la formación de los metabolitos que sintetiza, ha sido desconocida. Hace poco se ha

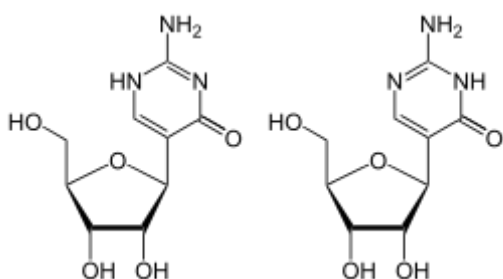
secuenciado el genoma de *S. showdoensis* ATCC 15227 y se identificó el grupo de genes responsables de la producción de showdomicina.

Son los primeros pasos hacia la generación de nuevos C-nucleósidos por la vía de ingeniería⁴.

La showdomicina es un antibiótico C-nucleósido, cuyo descubrimiento fue considerado un acercamiento a la quimioterapia selectiva contra el cáncer debido al efecto alquilante del grupo maleimida¹.



Pseudoisocytidine



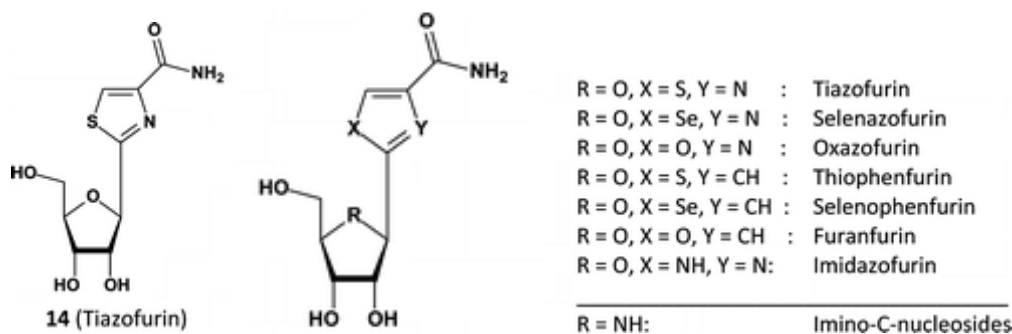
Isoforma H1

Isoforma H3

La pseudoisocitidina es un análogo de citosina. Se desarrolló como antileucémico porque no sufría la escisión enzimática del enlace glucosídico. Además, este C-nucleósido presentaba una mayor estabilidad y resistencia a la desaminación enzimática en comparación con 5-azacitidina y 1-beta-D-arabinofuranosil citosina.

La pseudoisocitidina se produce como dos isómeros (H1 y H3) Se hicieron estudios in vitro con resultados positivos. Sin embargo en ensayos clínicos de fase 1, se descubrió que la pseudoisocitidina era hepatotóxico, terminando aquí el desarrollo de este C-nucleósido como posible fármaco antileucémico⁵.

Tiazofurina



La tiazofurina es un C-Nucleósido que se sintetizó en 1977. Esta molécula presentaba potencialidad antiviral y antitumoral, aunque en su momento solo se estudió como antitumoral. Se vio que inhibía el crecimiento de varios tumores, entre ellos el carcinoma del pulmón de Lewis, refractario a la mayoría de los antitumorales. Para ser activo tenía que fosforilarse a su forma 5-monofosfato y mediante reacciones anabólicas se convertía en un análogo de NAD, ejerciendo su acción antitumoral mediante la inhibición de la IMP deshidrogenasa, agotando las reservas de GMP, GDP Y GTP.

La tiazofurina se llevó a ensayos clínicos de fase 2 para el tratamiento de leucemia mielógena crónica, sin embargo, los efectos secundarios observados comprometieron su desarrollo posterior como fármaco.

A partir de la tiazofurina, se sintetizó un derivado imino y la selenazofurina.

Presentan un gran potencial antitumoral al igual que antiviral, produciendo sinergismo con ribavirina, por lo que no hay que olvidarse de estos fármacos¹.

GS-6620

Otra de las actividades terapéuticas potenciales de los c-nucleósidos es como tratamiento para el virus de la hepatitis C.

La organización mundial de la salud estima que hay infectadas entre 130 y 170 millones de personas en el mundo. El 60-85% de las personas infectadas desarrollaran una enfermedad crónica, aproximadamente entre el 15 y el 35% de pacientes crónicamente infectados desarrollan cirrosis y entre el 1 a 3% carcinoma hepatocelular.

El tratamiento de elección incluye Ribavirina junto al interferón pegilado α . Sin embargo, este tratamiento de elección no es óptimo debido a que depende del genotipo

del virus y de la capacidad del paciente para generar una respuesta inmune. Además, este tratamiento presenta poca seguridad y eficacia.

En estas circunstancias de necesidad de un tratamiento más eficaz y tolerable, los nuevos antivirales se dirigen hacia la inhibición de proteínas esenciales en la replicación viral, libre del uso de interferón.

En los últimos años, se aprobaron para ensayos clínicos 2 antivirales con acción directa, teleprevir y boceprevir, que inhiben la proteasa NS3. Aunque hay estudios clínicos de su uso sin interferón, generalmente se usan combinados con PED-RBV.

Otros fármacos todavía en desarrollo actúan también a nivel de la inhibición de la replicación, pero a nivel de la polimerasa NS5B. Muchos de estos antivirales se sintetizaron hace años, mucho antes del descubrimiento del VHC, y su actividad anti-VHC fue durante años ignorada.

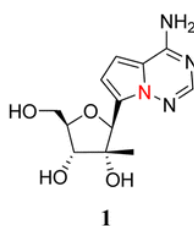
Todos estos fármacos son N-nucleósido con un azúcar ramificado en 2'-C-Me, ya que este grupo le confiere selectividad frente al VHC.

Estos inhibidores son metabolizados en células a sus respectivos nucleótidos trifosforilados, que se unen al sitio activo de la polimerasa NS5B viral, actuando como análogos al sustrato. Tras su incorporación, el grupo 2'-C-Me impide que el nucleótido trifosforilado entrante endógeno se una al sitio activo de NS5B. Por lo tanto, impide el alargamiento de la cadena de ARN, impidiendo la replicación viral.

El sofosbuvir se encuentra ya en el mercado y la mericitabina en desarrollo clínico. Ambos son N-nucleósidos que inhiben la polimerasa NS5B viral.

Uno de los fármacos en desarrollo actúa a este nivel, pero a diferencia de los anteriores, es un C-nucleósido. Es el GS-6620.

Su desarrollo químico-farmacéutico es reciente. Se comenzó a estudiar el C-nucleósido-2'-C-metil-4-aza-7,9-dideaza adenosina, que es una variante del N-nucleósido 2'-C-metil-7-desaza adenosina, un potente análogo de adenosina⁶.

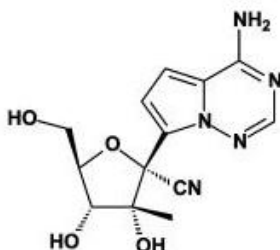


Se hicieron estudios *in vitro* para comparar ambas actividades y se observó que este C-nucleósido presentaba una potencia antivírica similar y además, era mucho más eficiente en la formación de su forma trifosforilada en el hígado después de su administración oral a roedores, en comparación con el N-nucleósido.

Por lo que se siguieron los estudios toxicológicos en animales. Sin embargo, se descubrieron un gran perfil de efectos adversos como necrosis de hígado, riñón y páncreas.

Para descubrir la causa de la toxicidad se estudió la interacción del trifosfato del C-nucleósido con las polimerasas humanas. Mientras el trifosfato no inhibía la polimerasa 2, era un buen sustrato de la polimerasa de ARN mitocondrial.

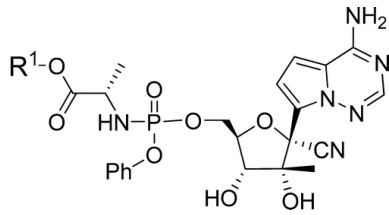
Se realizaron una serie de modificaciones estructurales para conseguir una mayor selectividad por las polimerasas virales. Como la sustitución en C1 produce cierta selectividad para virus ARN, se modificó la estructura dando lugar a 1'-ciano-2'-C-metil 4-aza-7,9-dideaza adenosina. Con esta modificación se observó una selectividad mejorada ya que no era sustrato de la ARN polimerasa mitocondrial (POLRMT) manteniendo al mismo tiempo la actividad inhibidora intrínseca de NS5B.



Se eligió el grupo ciano como sustituyente en 1', ya que la sustitución con metil o etinil producía la pérdida de la actividad inhibitoria de NS5B.

Sin embargo, la sustitución en 1' limita la primera de las tres etapas de fosforilación en la conversión metabólica al fármaco activo. Por lo que se preparó y probó un profármaco monofosfato de tipo fosforamidato. Este tipo de profármacos ya era conocido previamente, ya que es el mecanismo que utiliza el sofosbuvir.

La hidrólisis enzimática del éster es el primer paso para la activación del profármaco fosforamidato, por lo que se estudiaron distintos esteres, eligiéndose un éster de isopropilo.



Se buscaba un fármaco activo oralmente. Para ello, el profármaco monofosfato debía ser bien absorbido tras la administración oral y llegar sin degradación al hígado. El hígado es el órgano principal de la replicación del VHC, por lo que el fármaco debía llegar intacto allí, y convertirse a su forma activa trifosforilada efectivamente.

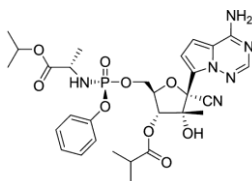
La absorción intestinal resultó ser un problema importante con esta serie de profármacos mientras que al administrarse por vía intravenosa el fármaco resultaba activo. Se probaron distintas estrategias, como reemplazar la L-alanina por otro L-aa o una sustitución en el anillo de fenilo (2-F, 2,4-diMe, metilendioxi). Estos intentos no fueron útiles.

Finalmente se probó con un enfoque de doble profármaco en el que se enmascaran uno o dos oxígenos del azúcar, así se aumentaba la absorción oral y, por tanto, su activación hepática.

Se evaluaron los profármacos en ensayos tanto in vitro como in vivo y se eligió el éster que enmascara uno de los hidroxilos del azúcar.

Se llevaron a cabo estudios toxicológicos no clínicos. Los estudios dieron resultados positivos y se establecieron los niveles de NOAEL.

El compuesto final era una mezcla diastereomérica, se estudiaron los isómeros y se seleccionó el más activo⁶.



Hay varios estudios in vivo sobre la actividad de GS-6620 así como un ensayo clínico.

Se estudió los niveles del profármaco que se encuentran intactos en el plasma de perros, monos y hámsteres después de su administración oral. También se estudiaron los niveles del metabolito trifosforilado en el hígado en estas tres especies de animales. Se encontró que el perro presentaba los niveles más altos de profármaco en plasma,

seguido del mono, mientras que los hámsteres presentaban los niveles más bajos. En cambio los hámsteres presentaban los niveles más altos del metabolito activo en el hígado, seguido de perros y monos. Hámsteres y monos presentan una absorción oral pobre pero compensada por una eficaz activación hepática. Sin embargo, interesaba una buena absorción intestinal, ya que es un factor crítico para el desarrollo del fármaco, así que se eligió el perro para completar los estudios experimentales de pH, formulación y efecto de alimentos en la absorción⁷.

El ensayo clínico realizado con este fármaco es de fase 1 y se realizó a lo largo del 2011.

Los pacientes que entraron en este ensayo clínico estaban infectados crónicamente con el VHC.

Fue un estudio con múltiples dosis de GS-6620, aleatorizado, controlado con placebo, que tuvo varias cohortes, la mayoría de ellas con pacientes que tenían el genotipo 1 del VHC y una cohorte con el genotipo 2 ó 3 de la enfermedad.

En cada cohorte se les administró el fármaco con o sin alimentos a 8 sujetos mientras que el placebo se les administró solo a 2 sujetos en cada cohorte.

Se estudió cantidades de 50 mg, 100 mg y 300 mg administrado con alimentos durante 5 días. También se estudiaron dosis de 100 mg, 300 mg, 900 mg a pacientes a los que se les administró el fármaco en ayunas durante 5 días.

Otras dosis estudiadas fueron 450 mg y 900 mg, 2 veces al día con alimentos, así como 450 mg, 2 veces al día, en una formulación en solución.

Se evaluó el número de sujetos con eventos adversos como medida de seguridad y tolerabilidad, así como la actividad antiviral a las distintas dosis.

También se midieron las concentraciones y los parámetros farmacocinéticos de GS-6620 y sus metabolitos.

Se registraron 12 efectos adversos relacionados con el tratamiento, y de ellos 11 fueron leves. No se observaron eventos adversos graves, siendo el dolor de cabeza el efecto adverso más frecuente. La mayor actividad antiviral se observó en los pacientes que recibieron el fármaco a una dosis de 450 o 900 mg con doble administración diaria.

Por lo tanto, se puede decir que GS-6620 presenta actividad antiviral y un buen perfil de seguridad en los pacientes crónicos del genotipo 1 del VHC a los que se les administró este fármaco durante 5 días.

En cuanto a los resultados del estudio farmacocinético, los datos clínicos muestran un aumento de los niveles sanguíneos del fármaco proporcional a la dosis administrada. Sin embargo, estos niveles son pobres en humanos al compararlos con los niveles observados en perros. Además, GS-6620 presenta grandes variaciones farmacocinéticas y farmacodinámicas intra e interpaciente.

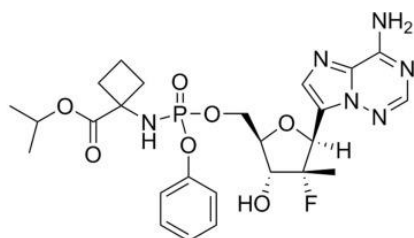
¿Será GS-6620 una alternativa para el tratamiento de la hepatitis C?

Estamos en la época del desarrollo de terapias sin interferón. Las combinaciones de fármacos, sin interferón, mejoran la eficacia y tolerabilidad, pero suponen un alto costo que limita su accesibilidad en los distintos países.

En este sentido, la disponibilidad de diferentes fármacos para tratar la hepatitis C, además de mejorar la terapéutica, aumentaría la competencia entre las compañías farmacéuticas, lo que podría disminuir su precio. Por lo tanto, se conseguiría una mayor accesibilidad al tratamiento para los pacientes.⁸

Los C-nucleósidos para la hepatitis C tienen una relevancia actual considerable, sin embargo, el desarrollo de GS-6620 como fármaco puede verse limitado debido a sus limitaciones farmacocinéticas y su variabilidad farmacodinámica.

Derivados GS-6620



En ensayos enzimáticos y celulares se ha observado que hay resistencia al GS-6620 en VHC con la mutación S282T. Por lo que se ha diseñado un nuevo fármaco, que es un C-nucleósido, sintetizado a partir del GS-6620.

Se modificó el 2'-hidroxilo por un 2'-fluoro, ya que así se eliminaba un enlace de hidrógeno que afecta a la permeabilidad intestinal. Además, los análogos de purina con esta modificación en la ribosa han sido presentados como relativamente insensibles a la resistencia por la mutación S282T.

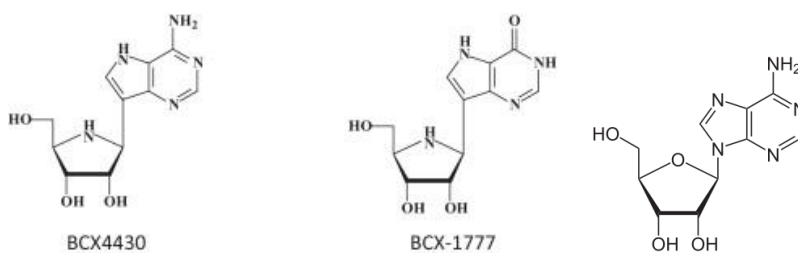
Este C-nucleósido también utiliza la estrategia de fosforamidato, tiene que trifosforilarse para ser activo, y una vez en el hígado ejerce su acción al inhibir la NS5B polimerasa viral.

Por lo que 2'-fluoro-2'-C-metil C-nucleósido aumenta la biodisponibilidad oral y se activa eficientemente en el hígado. Habrá que esperar el desarrollo de estudios in vivo y ensayos clínicos para descubrir el futuro de este fármaco.⁹

BCX4430

BCX4430 es un análogo de adenosina, en el que además de la modificación del enlace N-glucosídico por un enlace C-glucosídico, el 1,4-oxígeno ha sido reemplazado por un grupo 1,4-imino.

El compuesto original sintetizado en esta serie fue el derivado de hipoxantina, BCX-1777, pero no se le encontró efectos antivirales.¹⁰



Adenosina

BCX4430 inhibe la función de la ARN-polimerasa, actuando como terminador de la cadena de ARN. Lo hace por un mecanismo indirecto, el BCX4430 tiene que fosforilarse a BCX4430-trifosfato, después se escinde el grupo pirofosfato y el BCX4430-Monofosfato se incorporaría a las cadenas de ARN-viral naciente causando terminación prematura de la replicación y transcripción.

En ensayos in vitro realizados con células humanas, no se produjo la inhibición de la replicación, por lo que BCX4430 tendría selectividad por las polimerasas virales.

BCX4430 presenta una actividad antiviral de amplio espectro contra numerosos virus.

Se evaluó la actividad antiviral de BCX4430, que exhibió actividad antiviral frente a virus de ARN de sentido negativo que representan las familias de Filoviridae, Arenaviridae, Bunyaviridae, Orthomyxoviridae, Picornoviridae y Paramyxoviridae y virus de ARN de sentido positivo de las familias Flaviviridae y Coronaviridae. Los efectos antivirales fueron específicos y no se observó toxicidad celular o efectos antiproliferativos¹⁰.

La ribavirina, el antiviral de amplio espectro por excelencia, no es útil con los filovirus. Por lo que BCX4430 podría ser una buena alternativa para llenar este vacío terapéutico.¹⁰

ÉBOLA

El 23 de marzo de 2014, la Organización Mundial de la Salud (OMS) informó de un nuevo brote de infección por virus Ébola (VEBO) que comenzó en diciembre de 2013 en la República de Guinea, y poco después en otros países de África Occidental, en Sierra Leona y Liberia. Según la OMS, la epidemia de VEBO sigue creciendo y el tiempo de duplicación se estimó en 15,7 días en Guinea, 23,6 días en Liberia y 30,2 días en Sierra Leona.¹¹

La infección por VEBO es una fiebre hemorrágica grave causada por el virus de ARN de cadena negativa, no segmentado perteneciente al género Ebolavirus (familia Filoviridae, orden Mononegavirales). El segundo género en esta familia es Marburgvirus, que causa una enfermedad similar a la infección por VEBO. El tercer género, Cuevavirus, se limita a los murciélagos. Los murciélagos, y en particular el murciélago de la fruta, *Myonycteris torquata*, parecen ser el principal sospechoso como reservorio de las infecciones por el virus Ébola, pero los murciélagos no parecen enfermarse del virus. Los humanos, sin embargo, presentan fiebre, dolor de cabeza, músculo articular y dolor abdominal acompañados de diarrea y vómitos después de un período de incubación muy variable de 1-25 días. En estos primeros días, la infección por VEBO podría confundirse fácilmente con otras fiebres tropicales como la malaria o el dengue, hasta la aparición de la fase hemorrágica terminal que presenta las características hemorragias internas y subcutáneas.

VEBO se subdivide en 5 especies: Zaire (VEBO-Z), Sudán (VEBO-S), Reston (VEBO-R), Tai Forest (VEBO-TF) y Bundibugyo (VEBO-B). VEBO-Z y VEBO-S son los

VEBO predominantes asociados con brotes conocidos, y son más patógenos que el resto.¹²

VEBO ha sido clasificado como un agente de BSL4 (nivel de bioseguridad 4) o un agente potencial de bioterrorismo de Categoría A, por los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades. Se describió por primera vez en 1976.¹³

Además del virus de Ebola y Marburg, dentro de la familia de los Filoviridae se encuentran otros géneros como paramyxoviridae, rhabdoviridae (como el virus de la estomatitis vesicular) y bornaviridae.

El virus Ébola tiene un diámetro uniforme de 80 nm y forma filamentos de 800-1100 nm de largo. El virión clásico contiene una sola copia del genoma, pero también se han descrito viriones poliploides que contienen dos o más copias del genoma. El genoma del ARN viral codifica siete proteínas: NP (nucleoproteína), VP35 (cofactor de polimerasa), VP40 (proteína de matriz), GP (glicoproteína), VP30 (activador de la transcripción), VP24 (proteína de matriz secundaria) y la ARN polimerasa dependiente de ARN.³ Mientras que NP, VP24 y GP pueden estar implicados en la entrada viral, la polimerasa puede ser un objetivo atractivo para los inhibidores de la síntesis de ARN vírico, como BCX4430.¹¹

Hay una clara necesidad de regímenes eficaces de prevención y protección contra las fiebres hemorrágicas mediadas por Ébola. Sin embargo, en las últimas décadas ha habido modestos progresos porque hay muchos obstáculos como, por ejemplo, que para realizar los estudios se requieren laboratorios de nivel 4 de seguridad biológica de contención máxima. Los avances en el desarrollo de sistemas de alto rendimiento que permiten un rastreo rápido de compuestos antivirales potenciales a un nivel de contención mucho más bajo (BSL-2), así como el uso de tecnología de interferencia de ARN para confirmar estos hallazgos, ha conducido al descubrimiento de varios compuestos nuevos que han demostrado una eficacia protectora en modelos animales de infección.

¿PODRÍA SER BCX-4430 LA CURA DEL ÉBOLA?

El 11 y 12 de noviembre de 2014 se reunió en Ginebra, Suiza, el Comité Asesor Científico y Técnico de Intervenciones de Emergencia del Ébola de la OMS para revisar vacunas, terapias y diagnósticos para el tratamiento de la enfermedad del virus Ébola.

El Comité enumeró las terapias en el documento “categorización y priorización de drogas para la consideración de la prueba o el uso en pacientes infectados con Ébola”

En este documento están los fármacos que el comité identificó como adecuados para ensayos clínicos, así como fármacos para los cuales los ensayos clínicos parecían inapropiados. En este documento también están enumerados los fármacos reutilizados que mostraban actividad antiviral in vitro, para algunos de los cuales también se disponía de datos en animales pequeños. Además, el documento recoge los medicamentos que no fueron priorizados por este Comité de la OMS pero que fueron utilizados por motivos de compasión como Amiodarona, Irbesartan, Atorvastatina y Clomifeno, utilizados para tratar los síntomas de la enfermedad en el contexto de una infección altamente letal.

En el documento de categorización y priorización de drogas para la consideración de la prueba o el uso en pacientes infectados con Ébola, BCX4430 se encuentra dentro de la categoría B, que clasifica a las drogas que han sido priorizadas para estudios clínicos pero que los estudios aún no están finalizados.¹⁴

BCX4430 está siendo desarrollado por Biocryst, en colaboración con Agencias Gubernamentales de los Estados Unidos (USAMRIID). USAMRIID proporciona capacidades médicas de vanguardia para disuadir y defenderse contra los agentes de amenaza biológica actuales y emergentes. El Instituto, es el único laboratorio del Departamento de Defensa equipado para estudiar de forma segura los virus altamente peligrosos, incluyendo Ébola, en el nivel de bioseguridad 4 (contención máxima). USAMRIID es un laboratorio subordinado del Comando de Investigación y Materiales Médicos del Ejército de EE.UU.¹⁵

Ensayos in vivo BCX4430

Se han realizado numerosos estudios in vivo con animales tratados con BCX4430, pero el más destacable es este. Se realizó con un modelo animal de la enfermedad con macacos rhesus. El objetivo principal del estudio fue evaluar el efecto del tratamiento con BCX4430 en la supervivencia de animales infectados con el virus Ébola. Se inyectó intramuscularmente placebo o BCX4430 a los macacos, 30-120 minutos

después de la exposición al virus. Se repitieron las inyecciones dos veces al día durante 14 días.

Las dosis de BCX4430 o placebo administradas fueron de 16 mg/kg ó 25 mg/kg de BCX4430.

La supervivencia se evaluó al día 41.

En el grupo de animales a los que se inyectó dosis de 16 mg/kg de BCX4430, sobrevivieron 4 de 6 mientras que sobrevivieron 6 de 6 en el grupo de macacos tratados con 25 mg/kg.

Por lo tanto, la tasa de supervivencia global de los animales tratados con BCX4430 al día 41 fue 10 de 12.

La evaluación de la cantidad de virus en la sangre mostró una reducción del ARN del virus Ébola en comparación con los animales control.¹⁵

Ensayo clínico de BCX4430

Se hizo un ensayo clínico en Inglaterra. Era un ensayo de doble ciego en el que se compararon a sujetos sanos a los que se les administró BCX4430 por vía intramuscular, frente a los que se les administró placebo.

Se buscaba evaluar la inocuidad, la tolerabilidad y la farmacocinética del tratamiento.

Este estudio se dividió en dos partes.

En la primera parte, se estudiaron dosis únicas. 6 sujetos fueron tratados con BCX4430 frente a 2 que recibieron placebo.

En la segunda parte se estudiaron dosis múltiples durante 7 días. De los 10 sujetos tratados, 8 recibieron BCX4430 frente a 2 que recibieron dosis de placebo.

En este estudio se buscó principalmente conocer la seguridad del fármaco, medida por la frecuencia y la gravedad de los eventos adversos, las anormalidades de laboratorio y otros parámetros de seguridad.

Además, en este estudio se determinó la exposición del plasma a BCX4430, a través de parámetros de farmacocinéticos, así como la eliminación urinaria de BCX4430.

También se midieron los niveles de BCX6870, el metabolito trifosfato de BCX4430, en células mononucleares de sangre periférica.

Este estudio intervencional está terminado, sin embargo, los datos obtenidos no están disponibles. Por lo tanto, no podemos responder a la pregunta de si BCX4430 será la cura del Ébola.

Solo podemos afirmar, apoyándonos en la literatura científica, que podría serlo, pero se necesita el avance en los ensayos clínicos para transformar esta potencialidad clínica en un tratamiento frente al Ébola.

BCX4430 Y OTRO VIRUS

Como hemos visto anteriormente, la potencialidad antiviral del BCX4430 es amplia. Hay varios estudios in vitro e in vivo del BCX4430 frente a distintos virus que no disponen de un tratamiento eficaz y son problemas de salud mundial, entre ellos destacan estudios en animales de BCX4430 frente al virus de la fiebre amarilla.¹⁶

También se ha estudiado el fármaco en estudios in vitro frente al virus del Nilo Occidental¹⁷ y estudios celulares frente al virus del Zika.¹⁸

En estos estudios, BCX4430 mostró una potente actividad antiviral.

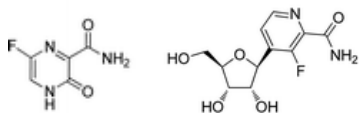
C-nucleosidos análogos de favipiravir

Los virus de la gripe son responsables de epidemias estacionales y de pandemias ocasionales que causan morbilidad y mortalidad significativas. A pesar de las vacunas disponibles, sólo se consigue una protección parcial. Actualmente, existen dos clases de fármacos que actúan contra el virus influenza y que están aprobados: los bloqueadores de los canales iónicos M2 y los inhibidores de la neuraminidasa. Sin embargo, la propagación mundial de las cepas influenza resistentes a los fármacos plantea una necesidad urgente de nuevos fármacos antivirales, particularmente con un mecanismo de acción diferente. Favipiravir, un agente antiviral de amplio espectro, ha demostrado una potente actividad anti-influenza en ensayos basados en células, y su ribosido trifosfato inhibe la polimerasa viral. Se ha enfocado tratar la infección diseñando nuevos

fármacos C-nucleosidos, que presenten analogía con el ribosido trifosfato y que actúen con un mecanismo similar al Favipiravir.

Los C-nucleósidos estudiados contienen en su estructura a la piridina, la piridazina o la pirimidina, manteniendo el resto carboxamida de favipiravir. Se buscaba que los C-nucleósidos imiten a la adenosina como a la guanosina a través de las orientaciones de la carboxamida, al igual que el favipiravir, al incorporarse al ARN. Uno de los compuestos estudiados, cuya estructura química está representada abajo, mostró gran actividad en ensayos celulares contra la replicación del virus influenza, y el fármaco trifosforilado mostró actividad inhibitoria de la polimerasa de la gripe A.

Por lo que los C-nucleósidos también tiene aplicación frente al virus de la gripe, y tal es así que numerosos estudios se dirigen en esta dirección.¹⁹



CONCLUSIÓN.

Como hemos visto en esta revisión, en los últimos años se ha retomado la investigación de los C-nucleósidos, descubiertos hace años y olvidados durante décadas.

Los vacíos terapéuticos existentes impulsan el desarrollo de nuevos quimioterapéuticos.

Los C-nucleósidos, como análogos de nucleósidos, tiene actividad potencial tanto antiviral como antitumoral. Además, al presentar la ventaja de una mayor resistencia al metabolismo por fosforilasas debido a su enlace C-nucleosídico, presenta una ventaja frente al resto de análogos de nucleótidos clásicos.

Los C-nucleósidos con mayor desarrollo clínico son GS-6620 y BCX-4430. Presentan muchas posibilidades de convertirse en los representantes de los C-nucleósidos en la terapéutica del futuro, y junto a otros fármacos ya existentes, o en investigación, formar parte de terapias combinadas para el virus de la hepatitis C y el virus del Ébola.

El resto de moléculas tratadas en este trabajo, presentan una gran potencialidad terapéutica, pero su desarrollo está condicionado por la inversión en su desarrollo clínico.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. De Clercq E. C-Nucleosides To Be Revisited. *J Med Chem.* 2016;59(6):2301-11.
2. Gutowski, G. E.; Sweeney, M. J.; DeLong, D. C.; Hamill, R. L.; Gerzon, K.; Dyke, R. W. Biochemistry and biological effects of the pyrazofurins (pyrazomycins): initial clinical trial. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1975, 255, 544–551.
3. Yazdanpanah Y et al. Treatment of Ebola virus disease. *Intensive care med.* 2015; 41(1):115-117
4. Palmu K, Rosenqvist P, Thapa K, Ilina Y, Siitonen V, Baral B et al. Discovery of the Showdomycin Gene Cluster from *Streptomyces showdoensis* ATCC 15227 Yields Insight into the Biosynthetic Logic of C-Nucleoside Antibiotics. *ACS Chem Biol.* 2017.
5. Woodcock TM, Chou TC, Tan CT, Sternberg SS, Philips FS, Young CW et al. Biochemical, pharmacological, and phase I clinical evaluation of pseudoisocytidine. *Cancer Res.* 1980;40(11):4243-9.
6. Cho A, Zhang L, Xu J, Lee R, Butler T, Metobo S, et al. Discovery of the first C-nucleoside HCV polymerase inhibitor (GS-6620) with demonstrated antiviral response in HCV infected patients. *J Med Chem.* 2014;57(5):1812-25.
7. Murakami E, Wang T, Babusis D, Lepist EI, Sauer D, Park Y, et al. Metabolism and pharmacokinetics of the anti-hepatitis C virus nucleotide prodrug GS-6620. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58(4):1943-51.
8. Gentile II, Coppola N, Buonomo AR, Zappulo E, Borgia G. Investigational nucleoside and nucleotide polymerase inhibitors and their use in treating hepatitis C virus. *Expert Opin Investig Drugs.* 2014;23(9):1211-23.
9. Kirschberg TA, et al. Discovery of a 2'-fluoro-2'-C-methyl C-nucleotide HCV polymerase inhibitor and a phosphoramidate prodrug with favorable properties. *Bioorg Med Chem Lett.* 2017; 27(8):1840-1847.
10. Taylor R, Kotian P, Warren T, Panchal R, Bavari S, Julander J et al. BCX4430 - A broad-spectrum antiviral adenosine nucleoside analog under development for the treatment of Ebola virus disease. *J. Infect. Public Health.* 9 (2016) 220-226.

11. De Clercq E. Ebola virus (EBOV) infection: Therapeutic strategies. Biochem Pharmacol. 2015 Jan 1;93(1):1-10.
12. Cardile AP, Warren TK, Martins KA, Reisler RB, Bavari S. Will There Be a Cure for Ebola?. Annu Rev Pharmacol Toxicol. 2017;57:329-348
13. Warren TK, Wells J, Panchal RG, Stuthman KS, Garza NL, et al. Protection against filovirus diseases by a novel broad-spectrum nucleoside analogue BCX4430. Nature. 2014; 508:402–5.
14. World Health Organization. Categorization and prioritization of drugs for consideration for testing or use in patients infected with Ebola. In: Ebola treatments and interventions. 3 July 2015
[Internet]. http://www.who.int/medicines/ebola-treatment/2015_0703TablesofEbolaDrugs.pdf?ua=1
15. BioCryst Pharmaceuticals Inc. BioCryst announces study results for BCX4430 in a non-human primate model of Ebola virus infection. In: Press Release. 23 Dec 2014
[Internet]. <http://investor.shareholder.com/biocryst/releasedetail.cfm?ReleaseID=888802>.
16. Julander JG, Bantia S, Taubenheim BR, Minning DM, Kotian P, Morrey JD, et al. BCX4430, a novel nucleoside analog, effectively treats yellow fever in a Hamster model. Antimicrob Agents Chemother. 2014;58(11):6607-14.
17. Eyer L, Zouharová D, Širmarová J, Fojtíková M, Štefánik M, Haviernik J, et al. Antiviral activity of the adenosine analogue BCX4430 against West Nile virus and tick-borne flaviviruses. Antiviral Res. 2017;142: 63-67.
18. Julander JG, Siddharthan V, Evans J, Taylor R, Tolbert K, Apuli C et al. Efficacy of the broad-spectrum antiviral compound BCX4430 against Zika virus in cell culture and in a mouse model. Antiviral Res. 137 (2017) 14-22
19. Wang G, Wan J, Hu Y, Wu X, Prhac M, Dyatkina N et al. Synthesis and Anti-Influenza Activity of Pyridine, Pyridazine, and Pyrimidine C-Nucleosides as Favipiravir (T-705) Analogues. J Med Chem. 2016;59(10):4611-24.