



FACULTAD DE FARMACIA

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

TRABAJO DE FIN DE GRADO

**INHIBIDORES DE LA PROTEINA NS5B PARA EL
TRATAMIENTO DE LA HEPATITIS C**

Autor: Esperanza Criado García

Tutor: María Loreto Salazar Martínez de Pisón

Convocatoria: Febrero 2017

RESUMEN

La hepatitis C es una hepatopatía provocada por la infección del virus de la hepatitis C (VHC); es de alta prevalencia mundial ya que afecta a 180 millones de individuos.

El primer tratamiento utilizado fue la terapia clásica o inmunomoduladora que consiste en la administración de una combinación de PEG interferón- α con ribavirina. Posteriormente, gracias a los avances en los estudios del ciclo del VHC se fueron encontrando nuevas dianas farmacológicas.

La expresión del genoma del VHC, da lugar a una única poliproteína de unos 3000 aminoácidos. Esta poliproteína es procesada y da lugar a tres proteínas estructurales (core, E1 y E2), y siete proteínas no estructurales (p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A y NS5B).

Tres de las proteínas no estructurales, NS3/4A, NS5A y NS5B, juegan un papel fundamental en la replicación del VHC, por lo que su inhibición constituye uno de los principales objetivos de actuación en el tratamiento de la hepatitis C.

Así, se comenzaron a desarrollar fármacos frente a estas dianas denominados “Antivirales de Acción Directa” (AADs).

La NS5B, es una ARN polimerasa dependiente de ARN (RdRp) con actividad nucleotidiltransferasa.

Los inhibidores de ésta polimerasa se clasifican en dos grupos dependiendo de su mecanismo de acción:

1. **Inhibidores análogos de nucleósidos (IN):** Son moléculas que compiten con el sustrato natural (NTP) por el centro activo de la polimerasa NS5B durante la replicación y actúan como terminadores de cadena.
2. **Inhibidores no análogos de nucleósidos (INN):** Son moléculas que se unen de forma alostérica a los diferentes dominios de la NS5B, que impiden los cambios conformacionales necesarios para el proceso replicativo del VHC.

Éstos inhibidores nunca se administran en monoterapia, si no que se combinan, bien con terapia inmunomoduladora, o bien con otros AADs. Así se consigue disminuir el tiempo de duración del tratamiento de hepatitis C crónica y aumentos muy importantes en la eficacia y una mejora del perfil de seguridad.

INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

Generalidades, Epidemiología y Prevalencia

La hepatitis C es una enfermedad hepática provocada por el VHC (virus de la hepatitis C), cuya principal vía de transmisión es la parenteral, aunque también en menor medida la sexual y vertical. La infección por el VHC representa un problema sanitario de gran magnitud a nivel mundial ya que afecta aproximadamente a 180 millones de individuos; además se ha estimado que el 80% de las infecciones agudas progresan a una

hepatopatía crónica. Aproximadamente el 30% de estos pacientes desarrollan cirrosis hepática y un 10% carcinoma hepatocelular (1, 2).

A la vista de estos datos, la infección por el VHC es uno de los mayores desafíos de salud pública y la principal causa de trasplantes hepáticos en el mundo occidental.

Estructura y Genoma del VHC

El virus de la hepatitis C es un virus con envuelta perteneciente a la familia *Flaviviridae*, género *Hepacivirus*, con genoma de ARN monocatenario de polaridad positiva (2, 3).

La expresión de su genoma, da lugar a una única poliproteína de unos 3000 aminoácidos. Esta poliproteína (figura 2) es procesada y da lugar a tres proteínas estructurales (core, E1 y E2), y siete proteínas no estructurales (p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A y NS5B) (2, 3).

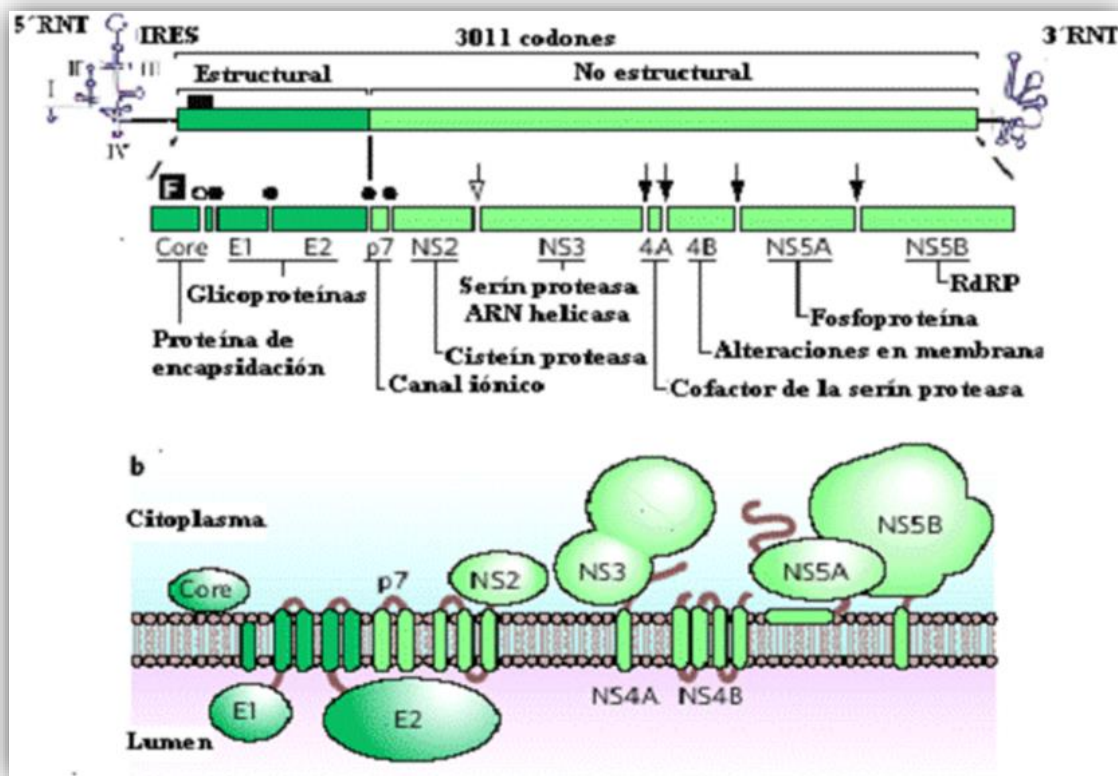


Figura 1: Organización genética de HCV y poliproteína.

Las funciones que desempeñan las proteínas virales (figura 1) son las siguientes:

- **Proteína core:** es la que forma la nucleocápsida. Esta proteína podría tener un papel importante en la replicación y en la morfogénesis de HCV.

- **Proteínas de envuelta E1 y E2:** están glicosiladas y forman un complejo no covalente que sería la unidad que forma la envoltura, y junto al core son los principales componentes de la partícula vírica. Estas dos proteínas participan en la unión inicial del virus al hepatocito.

- **Proteína p7:** es un polipéptido de 63 aminoácidos esencial para la infección productiva *in vivo*. Forma oligómeros y tiene actividad de canal catiónico.

- **NS2-3:** es una auto-proteasa, en concreto una cisteína-proteasa que corta entre las proteínas NS2 y NS3 durante el procesamiento de la poliproteína.

- **NS3/4A:** NS3 es una proteína multifuncional, con actividad serina-proteasa localizada en el tercio N-terminal, que se activa gracias a la interacción con NS4A, y también tiene actividad ARN helicasa/NTPasa localizada en los dos tercios C-terminales.

- **NS4B:** es una proteína de 27 kD que induce la formación de la red membranosa, pero su función no se conoce muy bien. La red membranosa (también llamada complejo replicativo) es una estructura que se forma durante la replicación del virus, compuesta de membranas del retículo endoplásmico y gotas lipídicas, donde el ARN viral se amplifica.

- **NS5A:** es una fosfoproteína que puede encontrarse en dos formas: basalmente fosforilada o hiperfosforilada. Probablemente el estado de fosforilación modula la eficiencia de la replicación.

- **NS5B:** es la ARN polimerasa dependiente de ARN (RdRp). Contiene motivos que son compartidos por todas las RdRp's, y posee la estructura típica de mano derecha, con dedos, palma y pulgar (3, 4).

Ciclo de Replicación del VHC

Los hepatocitos son la principal célula diana del VHC, pero también puede infectar linfocitos B, células dendríticas y otros tipos celulares. Se ha propuesto que el virus se une a receptores como el CD81 (que se encuentra en la superficie de muchas células, incluidas los hepatocitos), el receptor LDL (LDLR), el receptor de fagocito clase B tipo I (SR-BI), la claudina-1, y más recientemente, la ocludina. La proteína E2 también es capaz de unirse a DC-SIGN y L-SIGN.

La entrada se produce por endocitosis mediada por clatrina. La partícula viral queda englobada en un endosoma y entonces se produce una disminución del pH que provoca un cambio conformacional en las glicoproteínas del virus, lo que lleva a la fusión de la membrana viral con la membrana del endosoma, produciéndose la liberación de la partícula viral desnuda.

La traducción del genoma produce una poliproteína que se procesa por proteasas virales y celulares. Se ha propuesto que después ésta traducción y corte de la poliproteína, las proteínas nuevas no estructurales interaccionan entre ellas para formar un complejo replicativo asociado a membranas llamado replisoma, el

cual utiliza la cadena de ARN (+) como molde para sintetizar una cadena de ARN (-), que a su vez sirve como molde para sintetizar más cadenas positivas que son traducidas a poliproteína, o bien se empaquetan. Estos complejos replicativos pueden tener una función importante en la protección del ARN viral de doble cadena frente a las defensas del huésped o los fenómenos de interferencia.

El ensamblaje tiene lugar cerca de gotas lipídicas, en las que se va acumulando la proteína core. Se piensa que el ARN viral es transportado desde los sitios de replicación a las gotas lipídicas mediante la replicasa viral. La proteína NS5A, que tiene una capacidad intrínseca de unirse al ARN, podría liberarse del complejo replicativo a la superficie de las gotas lipídicas, interactuar con el core y de esta manera transportar el ARN a la proteína core, desencadenando la formación de la nucleocápsida.

Las etapas tardías del ciclo viral son poco conocidas. Se cree que los viriones salen por gemación del retículo endoplásmico o algún compartimento derivado del mismo, proceso que estaría ligado a la síntesis de VLDL, y salen de la célula a través de la ruta secretora (2, 3).

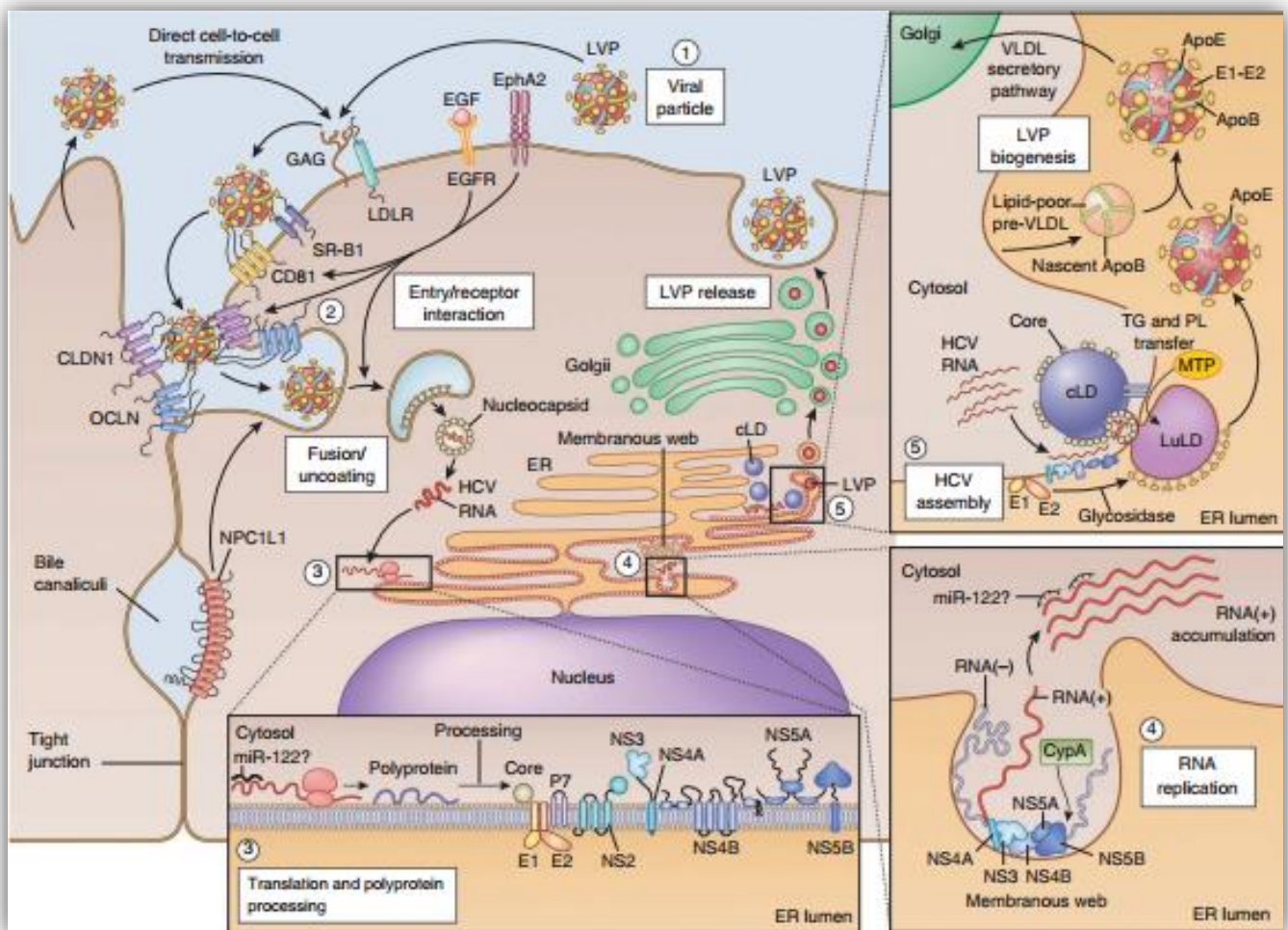


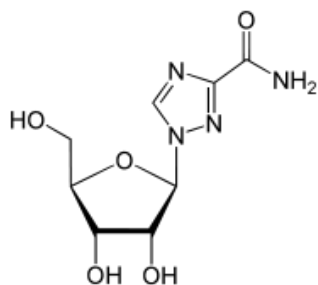
Figura 2: Ciclo de replicación del VHC.

Tratamiento de la Hepatitis C: Terapia Clásica y Nuevos Fármacos.

Hasta el año 2011, la terapia utilizada para tratar la hepatitis C ha consistido en la administración de inyecciones regulares de Interferón alfa (α) pegilado (PEG-INF- α) junto con dosis orales diarias de Ribavirina (RBV) (2).

El PEG-INF actúa de forma similar al interferón alfa nativo, ejerce efectos antivirales al aumentar la producción y liberación de enzimas específicas como la 2'5'-OAS (oligoadenilato sintetasa) o la proteína quinasa que contribuyen a la inhibición de la replicación viral, mediante la activación de endorribonucleasas que escinden el ARN viral impidiendo su traducción en proteínas virales. También las enzimas inducidas por éste PEG-INF- α pueden evitar la penetración viral, ensamblaje viral y la salida del virus de la célula (5).

La RBV es un análogo nucleósido de la guanosina de amplio espectro de actividad *in vitro*. Su mecanismo de acción consiste en alterar el metabolismo celular de las purinas tras ser trifosforilado por fosfoquinasas



celulares. Inhibe la inosina monofosfato deshidrogenasa y produce una disminución en la síntesis de guanosina trifosfato (GTP), lo que conduce a la inhibición del ARN viral y la síntesis de proteínas virales. Además, también aumenta la producción de citoquinas antivirales como IL-2, TNF-alfa y INF-gamma producidas por linfocitos T CD4 y CD8 (6).

El estudio de la estructura y función del virus VHC ha permitido el diseño racional de fármacos frente a las nuevas dianas. Estos son los antivirales de acción directa "DAAs". La combinación de estos últimos con la terapia clásica ha permitido disminuir la duración del tratamiento y mejorar las tasas de respuesta al tratamiento (4).

Los podemos clasificar en función de la diana sobre la que actúan:

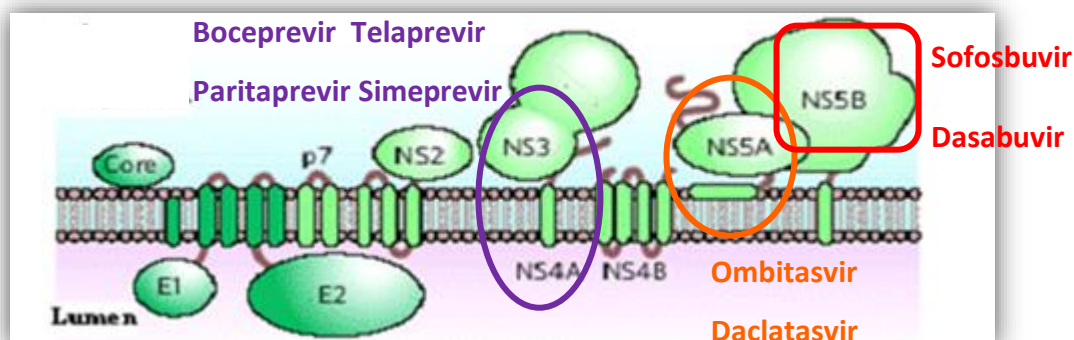


Figura 3: Antivirales de Acción directa.

1. Inhibidores de la Serin-Proteasa NS3/4A:

Son peptidomiméticos que se unen de manera covalente, aunque reversible, a la serina del sitio activo de la proteasa NS3 (Ser139) mediante un grupo funcional α -cetoamida. La inhibición de esta enzima impide el procesado de la poliproteína y la replicación vírica en las células anfitrionas infectadas por el VHC (7,8).

Los primeros en comercializarse en 2011 fueron Boceprevir y Telaprevir. Posteriormente, en 2014 se comercializaron otros peptidomiméticos macrocíclicos con mayor potencia, entre los que se encuentran Simeprevir y Peritaprevir (8).

2. Inhibidores de la NS5A:

Son inhibidores que actúan sobre la proteína NS5A, la cual es esencial para la replicación de ARN y en el ensamblaje de los viriones del VHC. Su mecanismo de acción no se conoce con certeza, dado que no se ha confirmado su función bioquímica (9).

Los inhibidores comercializados hasta la fecha son Ledipasvir, Ombitasvir y Daclatasvir.

3. Inhibidores de la polimerasa de ARN dependiente de ARN NS5B, objetivo de este trabajo.

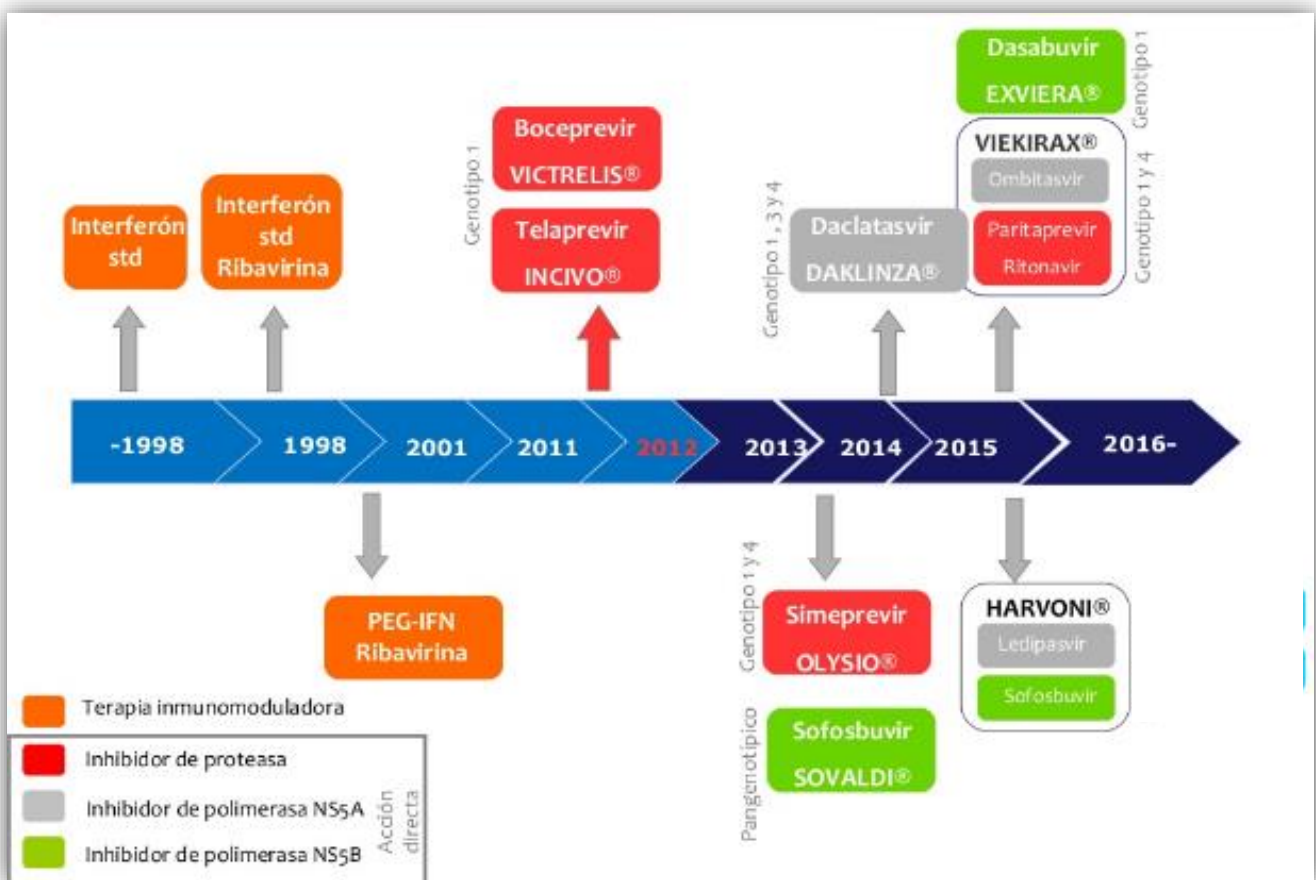


Figura 4: Evolución Histórica en el tratamiento de la Hepatitis C.

OBJETIVOS

1. Entender el problema sanitario que representa la infección del virus de la hepatitis C (VHC) y obtener una visión general de su estructura y genoma y las etapas de su ciclo vital, para entender cómo actúan los diferentes fármacos sobre el VHC.
2. Conocer la evolución histórica del tratamiento de la hepatitis C, estudiando los mecanismos de acción de los fármacos que incluye la terapia clásica y los antivirales de acción directa.
3. Conocer el mecanismo de replicación de la polimerasa NS5B y ver las diferentes fases donde es susceptible de ser diana.
4. Conocer la estructura, mecanismo de acción y combinaciones posibles de los inhibidores de la polimerasa NS5B para el tratamiento de la hepatitis C.

METODOLOGÍA

Se ha realizado una búsqueda en distintas bases de datos y portales (Pubmed y Google Académico) para obtener artículos académicos y resto de información que sea de utilidad. Se ha revisado y contrastado la información obtenida, y se ha elaborado un compendio que recoja los datos más actuales y fidedignos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Generalidades de la ARN polimerasa NS5B: Estructura y Actividad.

La polimerasa NS5B tiene una estructura en forma de mano derecha con los dominios comunes al resto de polimerasas, “palm” (naranja), “fingers” (azul) y “thumb” (verde), cómo podemos observar en la figura 5 (10).

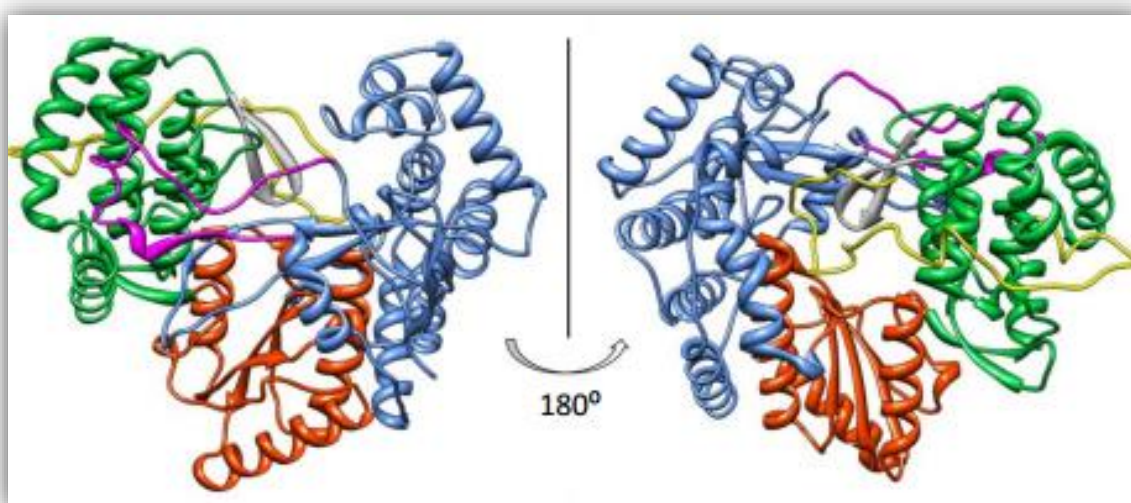


Figura 5: Estructura de la polimerasa RdRp NS5B

Dentro de estos dominios, la polimerasa NS5B como otras RdRps, contiene los dominios funcionales designados de A-F. El sitio activo de ésta se estructura principalmente en los motivos A, B y C que se sitúan en el dominio “palm”.

La NS5B es una nucleotidiltransferasa que tiene una actividad RdRp, utiliza el genoma viral ARN (+) como molde para sintetizar cadenas complementarias de ARN(-), que a su vez servirán de intermediarias para la síntesis de más ARN(+) progenie (10).

En la reacción nucleotidiltransferasa, dos metales divalentes estabilizan el estado de transición generado durante la reacción. El metal A facilita el ataque nucleofílico del 3' OH del último nucleótido al fosfato α del nucleótido entrante. El metal B estabiliza la carga negativa que se genera en el oxígeno saliente del fosfato α y, al mismo tiempo, facilita la salida de la molécula de pirofosfato (figura 7).

Recientemente se ha demostrado; cómo, más allá de la coordinación de los cationes divalentes, los residuos del centro activo participan directamente en el proceso cediendo un protón al pirofosfato saliente.

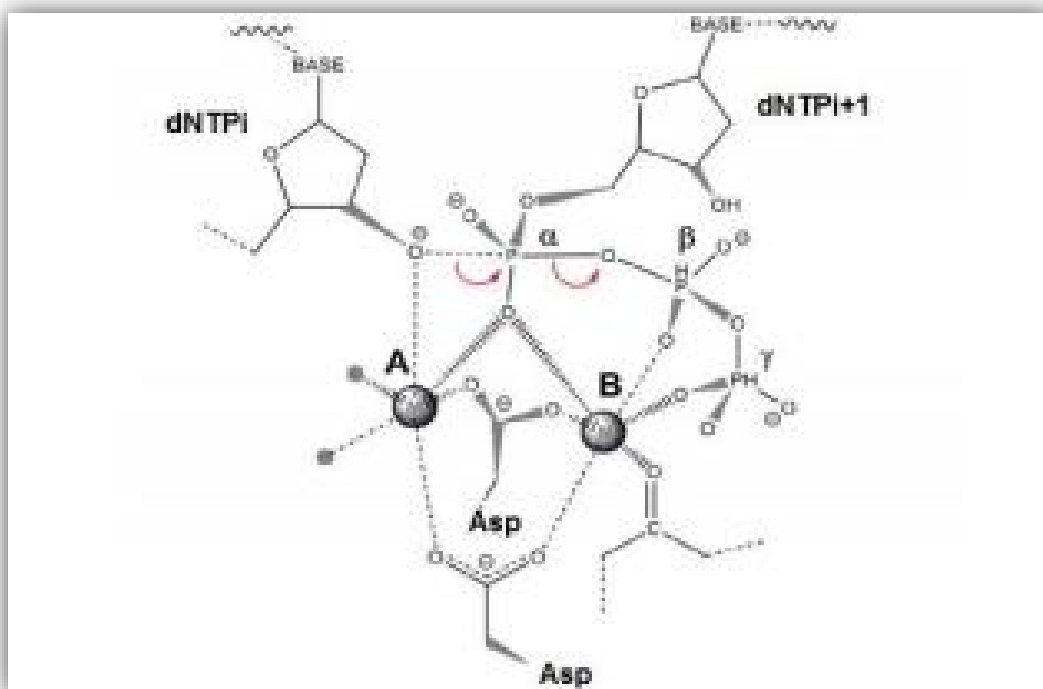


Figura 6: Reacción nucleotidiltransferasa.

El centro activo de la NS5B se estructura principalmente en los dominios A y C donde se encuentran los residuos implicados en la reacción nucleotidiltransferasa. El motivo A posee el residuo Asp220 de unión a cationes divalentes, que forma parte del motivo conservado D-X4-D. En este motivo también encontramos el residuo Asp225, responsable de la interacción con el 2'OH de la ribosa y por tanto implicado en la

discriminación entre rNTPS y dNTPS, favoreciendo la estabilidad del rNTP durante la reacción. El motivo C contiene los residuos Asp318 y Asp319 implicados en la unión de los cationes divalentes y la transferencia del nucleótido, por tanto, la triada catalítica está formada por los residuos Asp220, Asp318 y Asp319. El motivo B, más variable entre las polimerasas virales posee un motivo tipo Walker, relacionado con la unión del nucleótido e implicado en la fidelidad de copia.

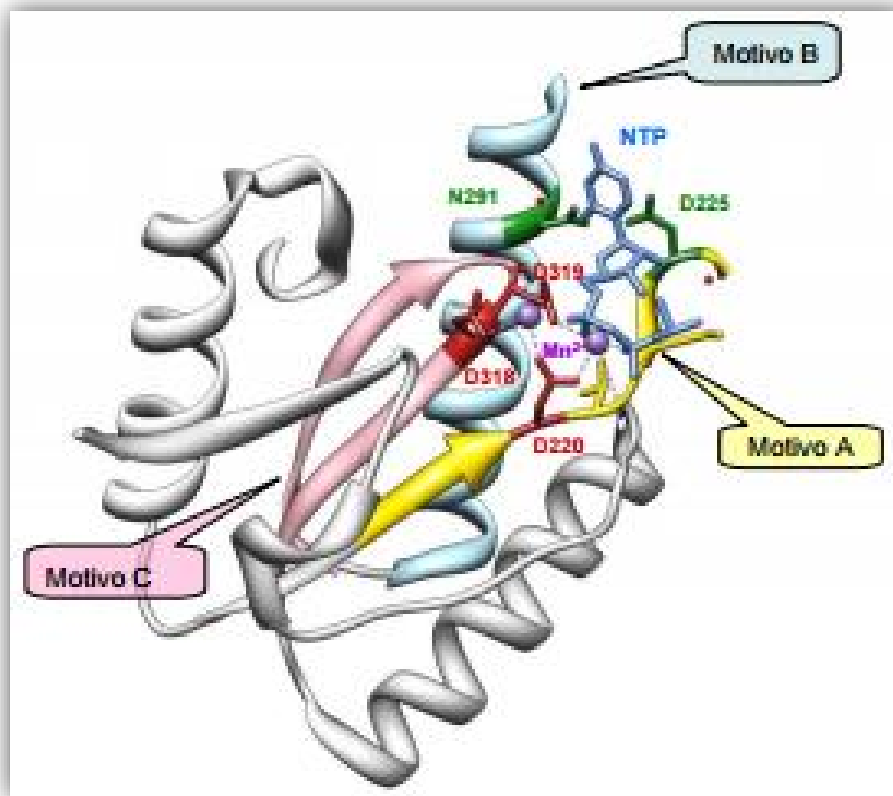


Figura 7: Motivos de la NS5B.

Etapas en la síntesis de RNA por la polimerasa NS5B:

- 1. Iniciación de novo o partir de un cebador:** consiste en la generación de un cebador o *primer* a partir del cual se elongará la cadena de ARN, para conseguir esto es necesaria la producción de un complejo de iniciación productivo diferenciada en las siguientes etapas:

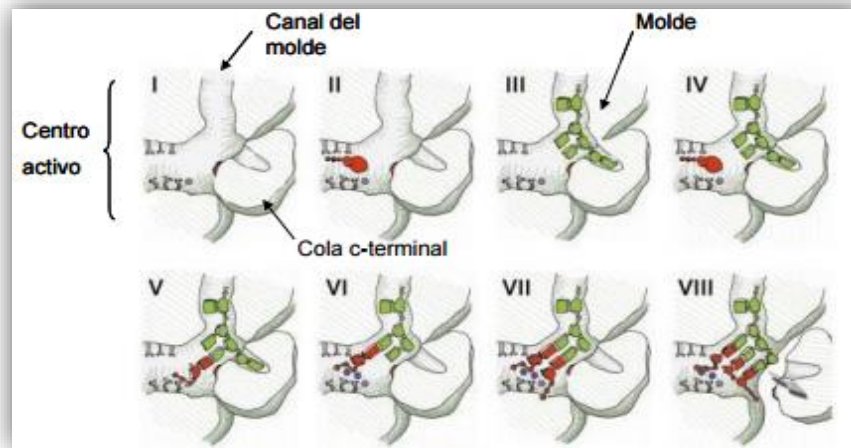


Figura 8: Etapas de la iniciación de novo.

- I) Estructura del centro activo en conformación cerrada con unión a los iones divalentes Mn^{2+} .
- II) Unión del NTP (que es una purina) iniciador a la polimerasa.
- III) Unión de la cadena molde a la polimerasa.
- IV) Unión no productiva entre el NTP iniciador y el molde.
- V) Primera unión productiva entre el NTP iniciador y la posición +2 del molde, que no se produce en el sitio inicial de unión del NTP.
- VI) El molde retrocede una posición liberando la posición +1.
- VII) Siguiendo unión de NTP+1 al sitio de unión productiva.
- VIII) Comienza la polimerización del ARN utilizando el primer sintetizado.

2. Transición iniciación-elongación: Todas las etapas hasta llegar a este punto, han estado favorecidas por la conformación cerrada de la enzima, establecida por la interacción entre las regiones “thumb” y “fingers” a través de una región llamada “fingerstips”, ésta región comprende los dominios loop $\Delta 1$ y loop $\Delta 2$ haciendo que la estructura se encierre sobre el sitio activo. El loop $\Delta 1$ se ha mostrado clave en el mantenimiento de la estructura cerrada de la NS5B, éste loop de la región “fingers” se encuentra en forma de lámina beta con la excepción de la zona de interacción con el “thumb” donde observamos una pequeña región en forma de hélice alfa que se introduce en el bolsillo del “thumb” formado por los aminoácidos A396, **W397**, **H428** e I432. Sin embargo, para pasar a una elongación progresiva de la cadena de ARN es necesaria una transición a conformación abierta, que se da gracias al desplazamiento del extremo C-terminal de la enzima para permitir la liberación de la doble cadena naciente.

3. Terminación de la síntesis de RNA (11).

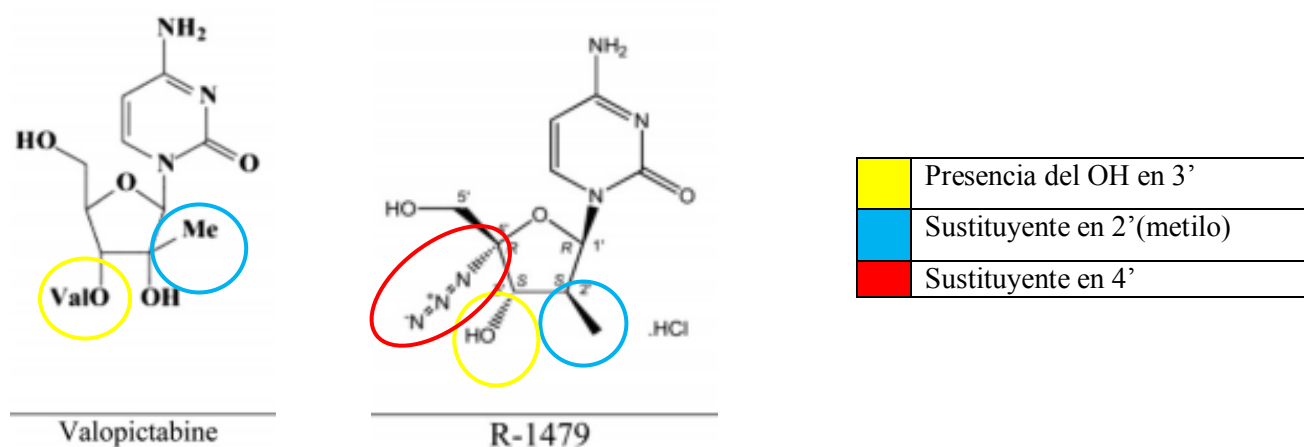
Tipos de inhibidores de la NS5B:

1. Inhibidores análogos de nucleósidos (IN)

Son moléculas que compiten con el sustrato natural (NTP) por su sitio de unión, es decir el centro activo de la polimerasa NS5B. Generalmente son profármacos, de naturaleza nucleósidos, que pueden atravesar las membranas celulares, pero una vez dentro de las células diana, necesitan ser trifosforilados por las fosfato kinasas para lograr la actividad inhibidora.

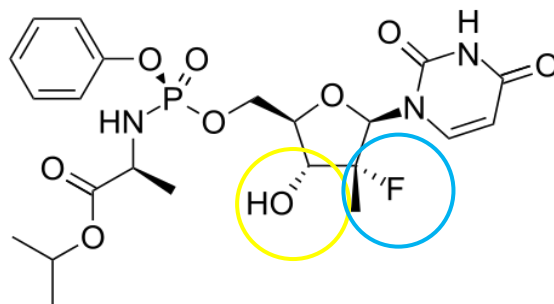
La eficacia de los IN depende de varios factores: su incorporación a la polimerasa, su conversión en trifosfatos y su efectividad como terminadores de cadena.

Los IN de la NS5B, posee un OH en el carbono 3' de la ribosa, lo que teóricamente permitiría la adición de nucleótidos próximos; esto se evita añadiendo sustituyentes en los carbonos 2' de la ribosa que generen impedimento estérico y provoquen la terminación de la cadena o bien en 4' que pueden actuar también como terminadores de cadena. También como factores de confusión básicos, es decir, se incorporan en el ARN recién sintetizado pero no permiten la incorporación de nucleótidos en la cadena complementaria. Éstos compuestos se llaman "terminadores de cadena no obligados". Aquellos terminadores de cadena que no tienen grupo OH en posición 3', no se utilizan como inhibidores de la NS5B, ya que no se fosforilan de forma apropiada en las células (11, 12).



La ventaja que presentan estas moléculas es que se unen a una zona muy conservada de la polimerasa en todos los genotipos, por lo que su grado de inhibición es más conservado que en los inhibidores no nucleosídicos. No obstante, pese a presentar una alta barrera genética, sigue siendo habitual la emergencia de mutaciones de resistencia, como recoge la literatura en relación a la mutación S282T, que consiste en la sustitución de la serina 282 de la NS5B por treonina. Irónicamente, desde un punto de vista químico, esta mutación corresponde a la adición de un grupo metilo, la misma modificación utilizada para convertir los sustratos enzimáticos en inhibidores (11).

La mayoría de los IN desarrollados en los últimos años, no han superado en su totalidad las pruebas clínicas, algunos fármacos prometedores como la Valopicitabina fueron descartados por escasa actividad antiviral y efectos secundarios. Actualmente el único IN comercializado es Sofosbuvir (Sovaldi®);



Sofosbuvir es un profármaco que sufre metabolismo intracelular para formar el trifosfato análogo de la uridina farmacológicamente activo (GS-461203), que puede ser incorporado al ARN del VHC por la polimerasa NS5B y actúa como terminador de cadena. En pruebas farmacológicas, GS-461203 inhibió la actividad polimerasa de la NS5B recombinante de los genotipos del VHC 1b, 2a, 3a y 4a con un valor de concentración inhibitoria del 50 % (CI50) comprendido entre 0,7 y 2,6 μM . GS-461203 no es un inhibidor de las polimerasas de ADN y ARN humanas ni un inhibidor de la polimerasa de ARN mitocondrial.

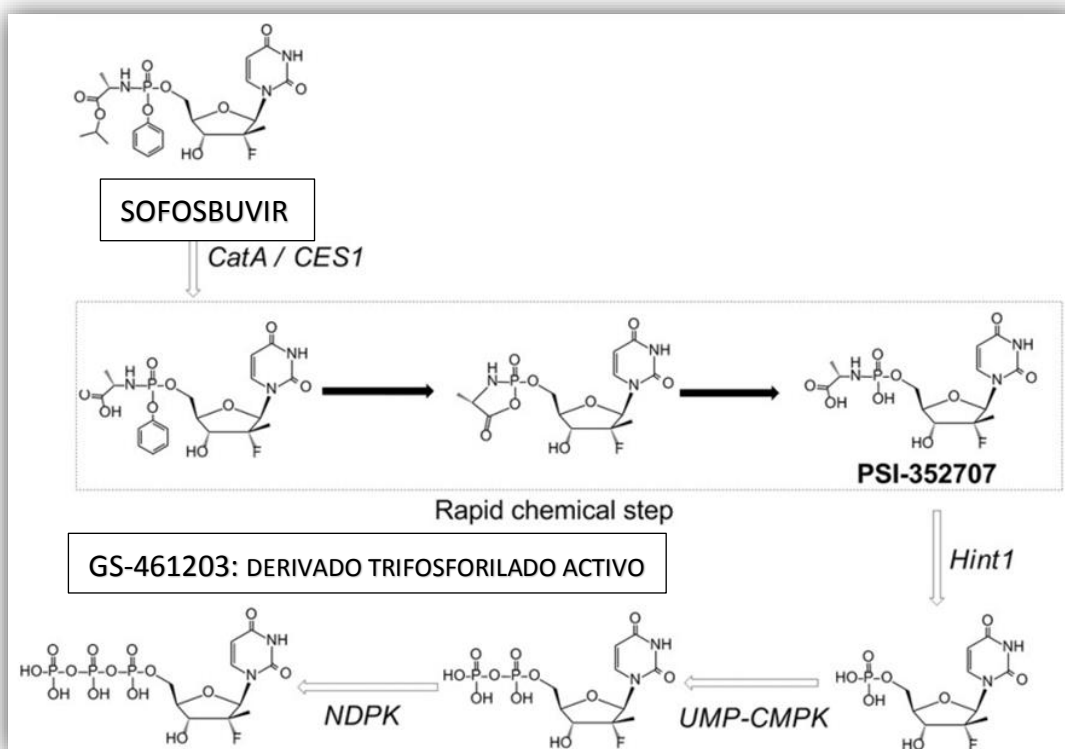


Figura 10: mecanismo de bioactivación de Sofosbuvir.

Sofosbuvir se utiliza en combinación con ribavirina o asociado a interferón pegilado y ribavirina. Se debe usar en combinación con otros medicamentos ya que no se recomienda la monoterapia con Sovaldi.

Se emplea para el tratamiento de la hepatitis C crónica, genotipos 1, 2, 3 y 4 y en aquellos pacientes que presentan simultáneamente infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (13).

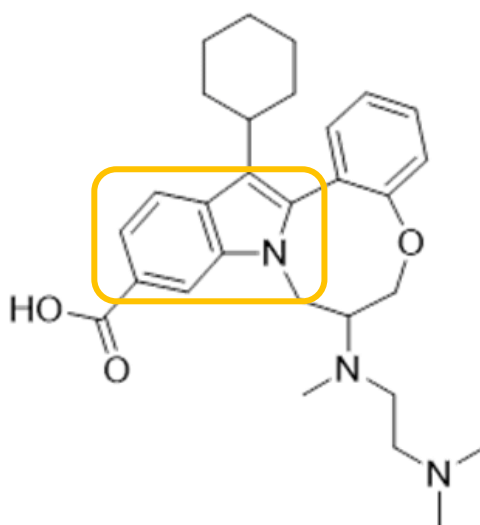
2. Inhibidores no análogos de nucleósidos (INN)

Éstos inhibidores se unen alostéricamente a la enzima impidiendo, generalmente, los cambios conformacionales necesarios durante el ciclo replicativo. Dependiendo de su sitio de unión y de su naturaleza química distinguimos los siguientes tipos: (7, 11).

2.1 INN del sitio I (“thumb”1): derivados de indol y benzimidazol:

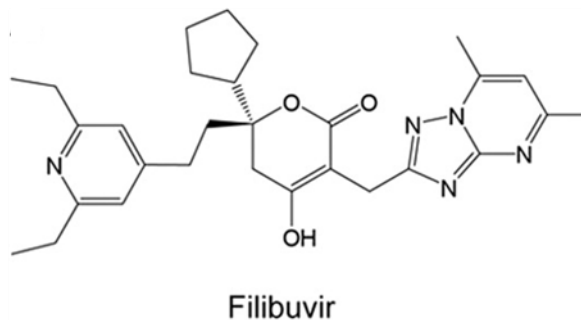
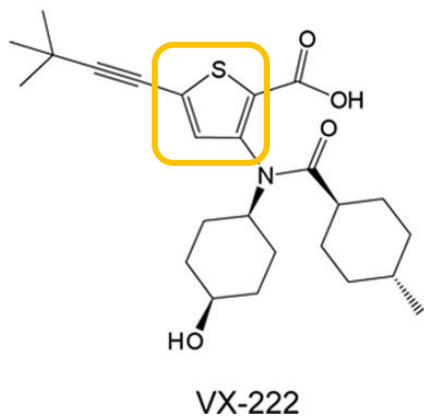
Son inhibidores no competitivos con los NTP (que encajan en la región “fingertips” mediante interacciones hidrofobicas) (loop $\Delta 1$), de tal forma que fuerzan a la enzima a estar en la conformación abierta, inactiva en la fase de iniciación de síntesis del ARN. Es especialmente relevante el hecho de que no son activos en los complejos de ARN-NS5B preformados, es decir no actúan durante la elongación de la cadena de ARN, sino sobre la etapa de iniciación de la síntesis de éste. Los residuos hidrofóbicos W397 y H428 imprescindibles en el mantenimiento del loop $\Delta 1$, participan a su vez en la unión de éstos inhibidores.

Bressanelli y colaboradores describen la existencia en la región “fingertips” de un sitio alostérico de unión a GTP de baja afinidad. La unión de GTP a este sitio estabiliza la conformación activa (cerrada) para la iniciación de novo. Las mutaciones de resistencia asociadas a los INN del sitio I incluyen a P495A y P495L, residuo que forma parte del sitio alostérico de unión a GTP (11).



2.2 INN del sitio II (“thumb”2): Tiofeno derivados.

Éstos inhibidores encajan en otro bolsillo hidrofóbico del dominio “thumb”, donde participan los siguientes aminoácidos hidrofóbicos: L419, M423, L474 y W528. Actúan como inhibidores durante la fase de elongación en la síntesis del ARN. Las mutaciones para el sitio II incluyen L419 y M423.



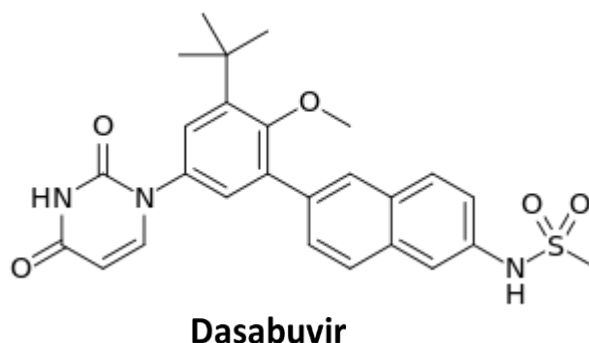
El Filibuvir a pesar de no ser un derivado de Tiofeno, se une al sitio II de la enzima, produciendo el mismo efecto inhibitorio (11).

2.3 INN del sitio III (“palm”I): benzodiazinas y acilpirrolidina derivados.

Parecen inhibir el movimiento conformacional de “thumb” y “palm”, uniéndose al dominio “palm” durante el proceso de iniciación de síntesis del ARN, inhibiendo por tanto esta etapa y no sobre la etapa de elongación o complejos NS5B-ARN preformados. Pese a unirse a la región “palm” no actúan competitivamente con los NTP.

Las mutaciones de resistencia típicas para éstos compuestos son: M414T, G558R, C451R, H95R.

El único inhibidor INN comercializado hasta la fecha es Dasabuvir (Exviera®), pertenece a este último tipo de inhibidores INN del sitio III.



En ensayos *in vitro*, Dasabuvir inhibió la actividad polimerasa de la NS5B recombinante de los genotipos del VHC 1a y 1b con un valor de CI50 de 2,8 y 10,7 nM, respectivamente (11, 14).

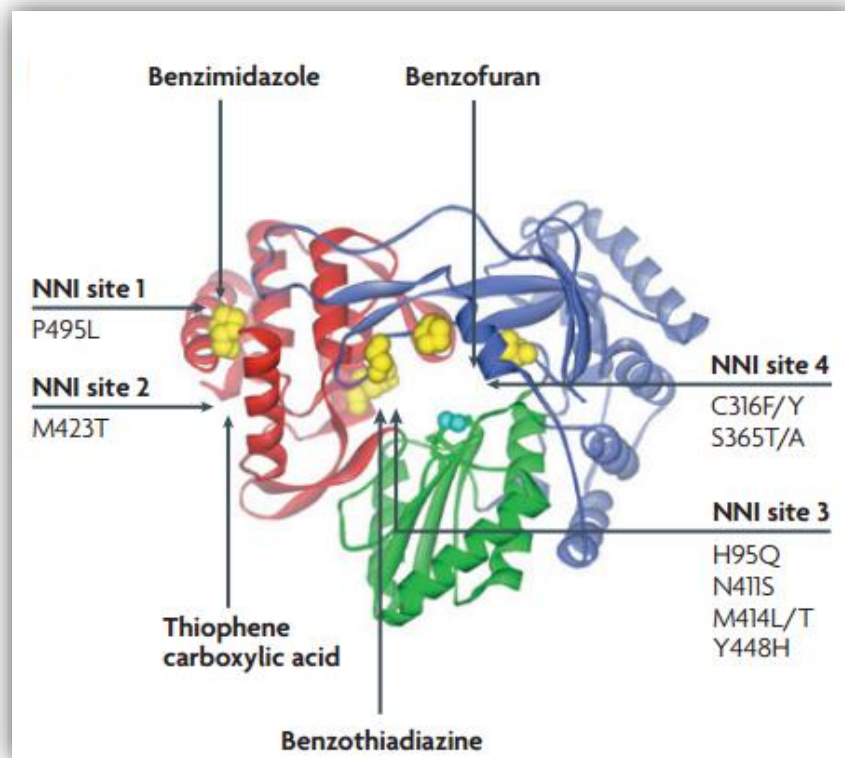


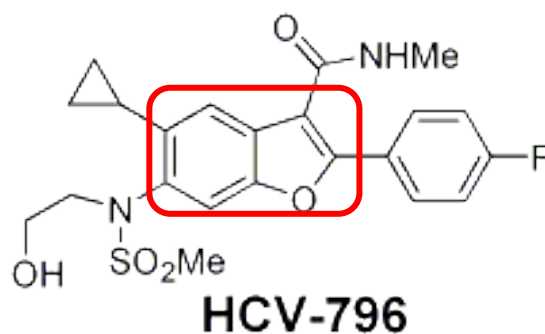
Figura 11: Diferentes sitios de unión alostérica a la NS5B.

Azul: “palm”, Rojo: “thumb”, Verde: “fingers”

2.4 INN del sitio IV (“palm”II): benzofuranos e imidazopirimidinas.

Inhibidores que se unen a un gran bolsillo hidrofóbico presente en la proximidad del centro activo y el loop β .

HCV 796 es un Benzofurano que se une en el sitio del agarre del cebador y mostró EC₅₀ de 9 nM en líneas celulares utilizando un replicón de VHC. Las mutaciones resistentes que surgieron fueron C316Y y S365T. La mutación C316Y interfiere con la unión del inhibidor (11).



CONCLUSIONES: TRATAMIENTO DE LA HEPATITIS C CON LOS INHIBIDORES DE LA NS5B

Los inhibidores de la NS5B nunca se utilizan en monoterapia, sino que se combinan con los demás fármacos descritos anteriormente para el tratamiento de la hepatitis C. Los tratamientos pueden ser de 12 o 24 semanas y combinados o no con ribavirina en función del genotipo de infección, presencia o no de cirrosis y tratamiento previo.

1. Combinaciones descritas para Sofosbuvir (Sovaldi®):

- Sofosbuvir (Sovaldi®) + Terapia inmunomoduladora (RBV y PEG-interferón- α) (13).

Población de pacientes*	Tratamiento	Duración
Pacientes con HCC de genotipo 1, 4, 5 ó 6	Sofosbuvir + RBV +PEG-alfa	12 semanas
	Sofosbuvir + RBV Solo para uso en pacientes que no son candidatos o no toleran el tratamiento con peginterferón alfa	24 semanas
Pacientes con HCC de genotipo 2	Sofosbuvir + RBV	12 semanas
Pacientes con HCC d genotipo 3	Sofosbuvir + RBV +PEG-alfa	12 semanas
	Sofosbuvir + RBV	24 semanas
Pacientes con HCC en espera de trasplante hepático (cirróticos)	Sofosbuvir + RBV	Hasta trasplante hepatico

* Incluye pacientes coinfectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH).

- Sofosbuvir (Sovaldi®) + Daclatasvir: inhibidor de NS5A (Daklinza®): con o sin RBV (9, 13).

Poblacion de paciente no cirróticos	Tratamiento	Duración
Genotipos 1,2,3,4,5 y 6	Sofosbuvir + Daclatasvir	12 semanas

Pobacion de pacientes cirróticos	Tratamiento	Duracion
Genotipo 1(a/b)	Sofosbuvir + Daclatasvir	24 semanas
	Sofosbuvir +Daclatasvir +RBV	12 semanas
Genotipo 2	Sofosbuvir + Daclastavir	12 semanas
Genotipo 3	Sofosbuvir + Daclatasvir +RBV	24 semanas
Genotipo 4, 5 y 6	Sofosbuvir + Daclatasvir	24 semanas
	Sofosbuvir + Daclatasvir +RBV	12 semanas

- **Sofosbuvir + Ledipasvir: inhibidor de NS5A (Harvoni®): con o sin RBV (13, 15).**

Poblacion de pacientes no cirróticos	Tratamiento	Duración
Genotipo 1(a/b)	Sofosbuvir + Ledipasvir + RBV	8-12 semanas
Genotipos 2y 3	NO	NO
Genotipos 4,5 y 6	Sofosbuvir + Ledipasvir	12 semanas

Poblacion de pacientes cirróticos	Tratamiento	Duración
Genotipos 1(a/b) ,4, 5 y 6	Sofosbuvir + Ledipasvir + RBV	12 semanas
	Sofosbuvir + Ledipasvir	24 semanas
	Sofosbuvir + Ledipasvir + RBV si se predice una respuesta negativa	24 semanas
Genotipos 2y 3	NO	NO

2. **Combinaciones descritas para Dasabuvir (Exviera®) (14, 16).**

La principal combinación es con Viekirax (Ritonavir, Ombitasvir, Paritaprevir).

El paritaprevir es un inhibidor de la proteasa NS3A que es metabolizado principalmente por el CYP3A4 y, por ello se coadministra con una dosis baja de ritonavir, ya que éste inhibe el CYP3A. Esta asociación permite que la dosis de paritaprevir sea menor que la que se sería necesaria si no hubiera ritonavir. El ombitasvir por su parte, es un inhibidor de la polimerasa NS5A, que se administra en combinación con paritaprevir/ritonavir.

Población de pacientes no cirróticos	Tratamiento	Duración
Genotipo 1(a/b)	Dasabuvir + Ritonavir + Ombitasvir + Paritaprevir + RBV	12 semanas
	Dasabuvir + Ritonavir + Ombitasvir + Paritaprevir	12 semanas
Genotipos 2, 3, 4, 5 y 6	NO	NO

Población de pacientes cirróticos	Tratamiento	Duración
Genotipo 1(a/b)	Dasabuvir + Ritonavir + Ombitasvir + Paritaprevir + RBV	24 -12 semanas
	Dasabuvir + Ritonavir + Ombitasvir + Paritaprevir	
Genotipos 2, 3, 4, 5 y 6	NO	NO

BIBLIOGRAFÍA

1. Michael J. Sofia, Wonsuk Chang, Phillip A. Furman, Ralph T. Mosley, y Bruce S. Ross. Nucleoside, Nucleotide, and Non-Nucleoside Inhibitors of Hepatitis C Virus NS5B RNA-Dependent RNA-Polymerase. *J. Med. Chem.* 2012; 55(6): 2481-2531.
2. Troels K H Scheel y Charles M Rice. Understanding the hepatitis C virus life cycle paves the way for highly effective therapies. *Nat. Med.* 2013; 19(7): 837-849.
3. Mónica Manzanares Ibañez. Estudio de genética del virus de la hepatitis c en cultivos celulares. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias.* 2011; 5(2) 11-35.
4. Yasir Waheed, Attya Bhatti y Muhammad Ashraf. RNA dependent RNA polymerase of HCV: A potential target for the development of antiviral drugs. *Infect. Genet. Evol.* 2013; 14: 247-257.
5. Agencia Europea del Medicamento. Ficha técnica o resumen de las características del producto Pegasys® (PEG-interferón-alfa 2a) desde:
http://www.ema.europa.eu/docs/es_ES/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000395/WC500039195.pdf
6. Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios. Ficha técnica de Ribavirina Sandoz. Disponible desde: https://www.aemps.gob.es/cima/pdfs/es/ft/73720/P_73720.pdf
7. Raffaele De Francesco y Giovanni Migliaccio. Challenges and successes in developing new therapies for hepatitis C. *Nature.* 2005; 436: 837-849.
8. Miguel Ángel Fernández García. Fármacos inhibidores de proteasas virales. Trabajo de Fin de grado, Facultad de Farmacia. UCM. Junio 2015.
9. Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios. Informe de posicionamiento de Daclatasvir (Daklinza®). 20 Febrero 2015. Desde:
<https://www.aemps.gob.es/medicamentosUsoHumano/informesPublicos/docs/IPT-daclatasvir-daklinza.pdf>
10. Erik De Clercq. The design of drugs for HIV and HCV. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2007; 6: 1001-1018.
11. Alberto. J. Lopez Jimenez. Relación estructura-función de la polimerasa del virus de la hepatitis C (NS5B). *Tesis doctoral.* Universidad de Castilla-La Mancha. 2013.
12. Michael J. Sofia, Donghui Bao, Wonsuk Chang, Jinfu Du, Dhanapalan Nagarathnam, Suguna Rachakonda, P. Ganapati Reddy, Bruce S. Ross, Peiyuan Wang, Hai-Ren Zhang, Shalini Bansal, Christine Espiritu, Meg Keilman, Angela M. Lam, Holly M. Micolochick Steuer, Congrong Niu, Michael J. Otto, and Phillip A. Furman. Discovery of a β -D-20-Deoxy-20-r-fluoro-20- β -methyluridine Nucleotide Prodrug (PSI-7977) for the Treatment of Hepatitis C Virus. *J. Med. Chem.* 2010; 53:7202-7218.

13. Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios. Informe de posicionamiento de Sofosbuvir (Sovaldi®). 20 de Noviembre 2014. Disponible desde:
<https://www.aemps.gob.es/medicamentosUsoHumano/informesPublicos/docs/IPT-sofosbuvir-sovaldi.pdf>
14. Agencia Europea del Medicamento. Ficha técnica o resumen de las características del producto Exviera®. Disponible desde: http://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2015/20150115130446/anx_130446_es.pdf
15. Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios. Informe de posicionamiento de Ledipasvir/Sofosbuvir (Harvoni®). 20 de marzo de 2015. Disponible desde:
<https://www.aemps.gob.es/medicamentosUsoHumano/informesPublicos/docs/IPT-ledipasvir-sofosbuvir-harvoni.pdf>
16. Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios. Informe de Posicionamiento Terapéutico de Viekirax®(ombitasvir/paritaprevir/ritonavir) y Exviera® (dasabuvir). 14 de abril de 2015. Disponible desde:
<https://www.aemps.gob.es/en/medicamentosUsoHumano/informesPublicos/docs/IPT-viekirax-exviera.pdf>