



Buscan un tratamiento efectivo | 07 MAR 20

Estudian fármacos para combatir la infección por coronavirus

Evalúan la eficacia antiviral de cinco medicamentos aprobados por la FDA incluyendo: Ribavirina, Penciclovir, Nitazoxanida, Nafamostat y Cloroquina

Autor: Manli Wang¹, Ruiyuan Cao², Leike Zhang¹, Xinglou Yang, Jia Liu, Mingyue Xu, Zhengli Shi, Zhihong Hu, Wu Zhong and Gengfu Xiao Fuente: Cell Research (2020) 30:269–271; <https://doi.org/10.1038/s41422-020-0282-0> Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro

Página 1

En diciembre de 2019, una nueva neumonía causada por un patógeno previamente desconocido surgió en Wuhan, una ciudad de 11 millones de personas en el centro de China. Los casos iniciales estaban relacionados con exposiciones en un mercado de mariscos en Wuhan.¹

A partir del 27 de enero de 2020, las autoridades chinas informaron 2835 casos confirmados en China continental, incluidas 81 muertes. Además, se identificaron 19 casos confirmados en Hong Kong, Macao y Taiwán, y se identificaron 39 casos importados en Tailandia, Japón, Corea del Sur, Estados Unidos, Vietnam, Singapur, Nepal, Francia, Australia y Canadá.

El patógeno pronto se identificó como un nuevo **coronavirus** (2019-nCoV), que está estrechamente relacionado con el síndrome respiratorio agudo grave CoV (SARS-CoV).²

Actualmente, no existe un tratamiento específico contra el nuevo virus. Por lo tanto, es urgente identificar agentes antivirales efectivos para combatir la enfermedad.

Un enfoque eficiente para el descubrimiento de fármacos es probar si los fármacos antivirales existentes son efectivos en el tratamiento de infecciones virales relacionadas. El 2019-nCoV pertenece al grupo de Betacoronavirus que también contiene al SARS-CoV y al virus del Síndrome Respiratorio del Medio Oriente CoV (MERS-CoV).

Se han usado varios medicamentos, como ribavirina, interferón, lopinavir-ritonavir, corticosteroides, en pacientes con SARS o MERS, aunque la eficacia de algunos medicamentos sigue siendo controvertida.³ En este estudio, evaluamos la eficacia antiviral de cinco medicamentos aprobados por FDA incluyendo:

1. Ribavirina
2. Penciclovir
3. Nitazoxanida
4. Nafamostat
5. Cloroquina

Y dos medicamentos antivirales de amplio espectro conocidos remdesivir (GS-5734) y favipiravir (T-705) contra un aislado clínico de 2019-nCoV in vitro

Se llevaron a cabo ensayos estándar para medir los efectos de estos compuestos sobre la citotoxicidad, el rendimiento del virus y las tasas de infección de 2019-nCoV.

En primer lugar, la **citotoxicidad** de los compuestos candidatos en las células Vero E6 (ATCC-1586) se determinó mediante el ensayo CCK8. Luego, las células Vero E6 se infectaron con nCoV-2019BetaCoV / Wuhan / WIV04 / 20192 a una multiplicidad de infección (MOI) de 0.05 en presencia de concentraciones variables de los fármacos de prueba. Se usó DMSO en los controles.

La **eficacia** se evaluó mediante la cuantificación de los números de copias virales en el sobrenadante celular mediante RT-PCR cuantitativa en tiempo real (qRT-PCR) y se confirmó con la visualización de la expresión de la nucleoproteína del virus (NP) mediante microscopía de inmunofluorescencia a las 48 h después de la infección (pi).

Entre los siete medicamentos probados, altas concentraciones de tres análogos de nucleósidos, incluida la ribavirina (concentración efectiva semi-máxima (CE₅₀) = 109.50 μM, concentración semicitotóxica (CC₅₀) > 400 μM, índice de selectividad (SI) > 3.65), penciclovir (CE₅₀ = 95.96 μM, CC₅₀ > 400 μM, SI > 4.17) y favipiravir (EC₅₀ = 61.88 μM, CC₅₀ > 400 μM, SI > 6.46) fueron necesarios para reducir la infección viral).

Sin embargo, se ha demostrado que el **favipiravir** es 100% efectivo en la protección de ratones contra la exposición al virus del Ébola, aunque su valor de CE₅₀ en las células Vero E6 fue tan alto como 67 μM, lo que sugiere que se recomiendan más estudios *in vivo* para evaluar este nucleósido antiviral.

Nafamostat, un potente inhibidor de MERS-CoV, que previene la fusión de la membrana, fue inhibidor contra la infección 2019-nCoV (EC₅₀ = 22.50 μM, CC₅₀ > 100 μM, SI > 4.44).

La **nitazoxanida**, un agente antiprotozoario comercial con un potencial antiviral contra una amplia gama de virus, incluidos los coronavirus humanos y animales, inhibió el 2019-nCoV a una concentración micromolar baja (CE₅₀ = 2.12 μM; CC₅₀ > 35.53 μM; SI > 16.76). Se recomienda una evaluación adicional *in vivo* de este medicamento contra la infección 2019-nCoV.

En particular, dos compuestos **remdesivir** (EC₅₀ = 0.77 μM; CC₅₀ > 100 μM; SI > 129.87) y **cloroquina** (EC₅₀ = 1.13 μM; CC₅₀ > 100 μM, SI > 88.50) bloquearon la infección viral a una concentración micromolar baja y mostraron un alto SI.

Remdesivir ha sido reconocido recientemente como un fármaco antiviral prometedor contra una amplia gama de infecciones por virus de ARN (incluido el SARS / MERS-CoV₅) en células cultivadas, ratones y modelos de primates no humanos (NHP). Actualmente se encuentra en desarrollo clínico para el tratamiento de la infección por el virus del Ébola.⁶

Remdesivir es un análogo de adenosina, que se incorpora a las cadenas de ARN virales nacientes y da como resultado la terminación prematura.⁷ Nuestro análisis de tiempo de adición mostró que remdesivir funcionó en una etapa posterior a la entrada del virus que está de acuerdo con su supuesto mecanismo antiviral como análogo de nucleótido.

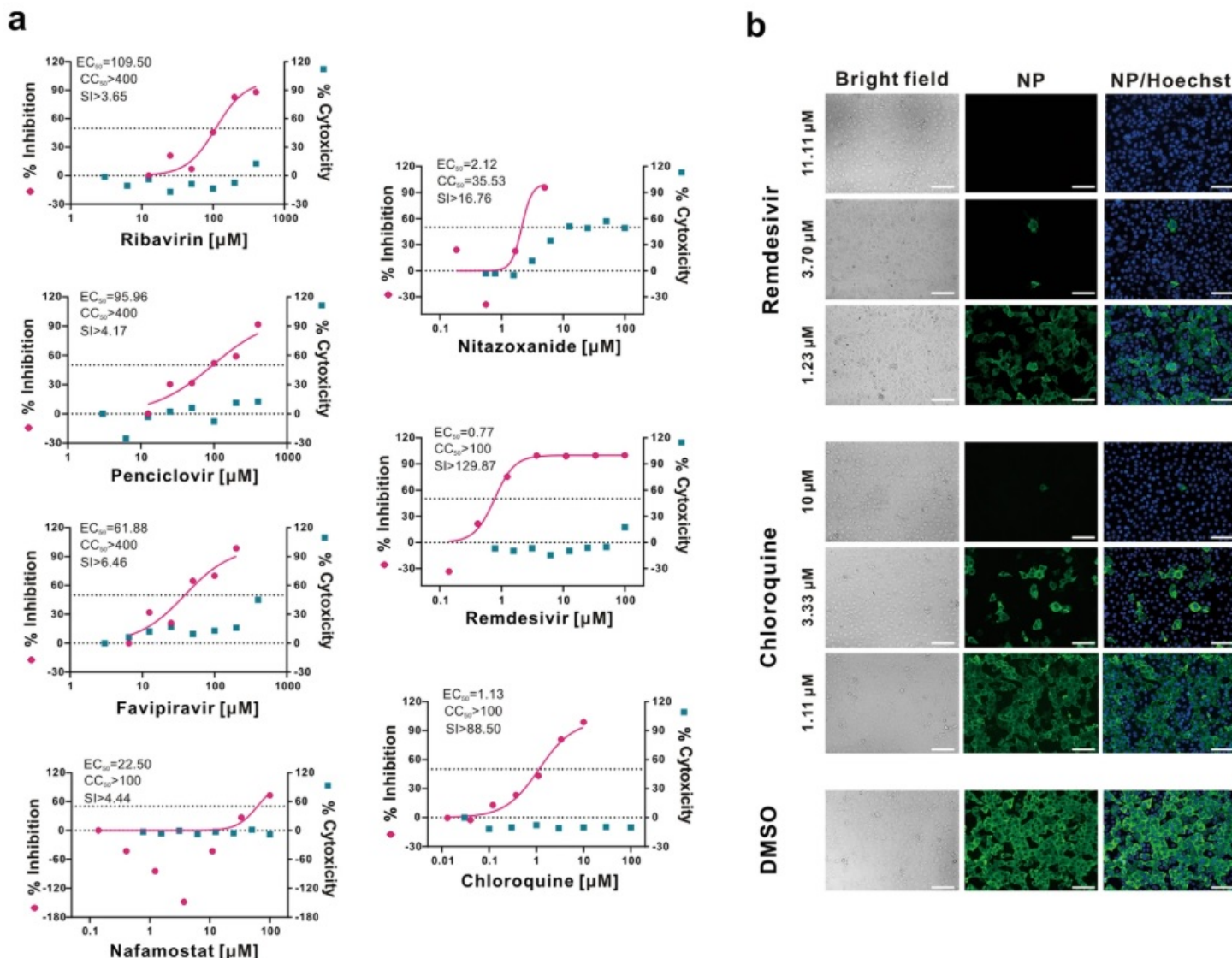
Warren y col. mostró que en el modelo NHP, la administración intravenosa de una dosis de 10 mg / kg de remdesivir dio como resultado niveles persistentes concomitantes de su forma activa en la sangre (10 μM) y confirió una protección del 100% contra la infección por el virus del Ébola.⁷

Nuestros datos mostraron que el valor EC₉₀ de remdesivir contra 2019-nCoV en las células Vero E6 fue de 1.76 μM, lo que sugiere que es probable que su concentración de trabajo se logre en NHP. Nuestros datos preliminares mostraron que remdesivir también inhibió la infección del virus de manera eficiente en una línea celular humana (células Huh-7 de cáncer de hígado humano), que es sensible a 2019-nCoV.²

La **cloroquina**, un fármaco antipalúdico y autoinmune ampliamente utilizado, se ha informado recientemente como un posible fármaco antiviral de amplio espectro.^{8,9} Se sabe que la cloroquina bloquea la infección por virus al aumentar el pH endosómico requerido para la fusión virus / célula, así como interferir con la glucosilación de los receptores celulares de SARS-CoV.¹⁰

Nuestro ensayo de tiempo de adición demostró que la cloroquina funcionaba tanto en la entrada como en las etapas post-entrada de la infección 2019-nCoV en las células Vero E6. Además de su actividad antiviral, la cloroquina tiene una actividad **inmunomoduladora**, que puede aumentar sinérgicamente su efecto antiviral *in vivo*.

La cloroquina se distribuye ampliamente en todo el cuerpo, incluido el pulmón, después de la administración oral. El valor de EC₉₀ de la cloroquina contra el 2019-nCoV en las células Vero E6 fue de 6.90 μM, lo que se puede lograr clínicamente como se demostró en el plasma de pacientes con artritis reumatoide que recibieron 500 mg de administración.¹¹ La cloroquina es un medicamento barato y seguro que ha sido usado por más de 70 años y, por lo tanto, es potencialmente clínicamente aplicable contra el 2019-nCoV.



Se infectaron células Vero E6 con 2019-nCoV a una MOI de 0,05 en el tratamiento de diferentes dosis de los antivirales indicados durante 48 h. El rendimiento viral en el sobrenadante celular se cuantificó por qRT-PCR. La citotoxicidad de estos fármacos para las células Vero E6 se midió mediante ensayos CCK-8. Los ejes izquierdo y derecho Y de los gráficos representan el porcentaje medio de inhibición del rendimiento del virus y la citotoxicidad de los fármacos, respectivamente.

Los experimentos se realizaron por triplicado.

Nuestros hallazgos revelan que remdesivir y cloroquina son altamente efectivos en el control de la infección 2019-nCoV in vitro. Dado que estos compuestos se han utilizado en pacientes humanos con un historial de seguridad y se ha demostrado que son efectivos contra diversas dolencias, sugerimos que se evalúen en pacientes humanos que padecen la nueva enfermedad por coronavirus.

Referencias bibliográficas

- Huang, C. L. et al. The Lancet [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30183-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30183-5) (2020).
- Zhou, P. et al. Nature (accepted).
- Zumla, A., Chan, J. F., Azhar, E. I., Hui, D. S. & Yuen, K. Y. Nat. Rev. Drug Discov. 15, 327–347 (2016).
- Oestereich, L. et al. Antivir. Res. 105, 17–21 (2014).
- Sheahan, T. P. et al. Sci. Transl. Med. 9, eaal3653 (2017).
- Mulangu, S. et al. N. Engl. J. Med. 381, 2293–2303 (2019).
- Warren, T. K. et al. Nature 531, 381–385 (2016).

8. Savarino, A., Di Trani, L., Donatelli, I., Cauda, R. & Cassone, A. *Lancet Infect. Dis.* 6, 67–69 (2006).
9. Yan, Y. et al. *Cell Res.* 23, 300–302 (2013).
10. Vincent, M. J. et al. *Virology* 2, 69 (2005).
11. Mackenzie, A. H. *Am. J. Med.* 75, 40–45 (1983).

