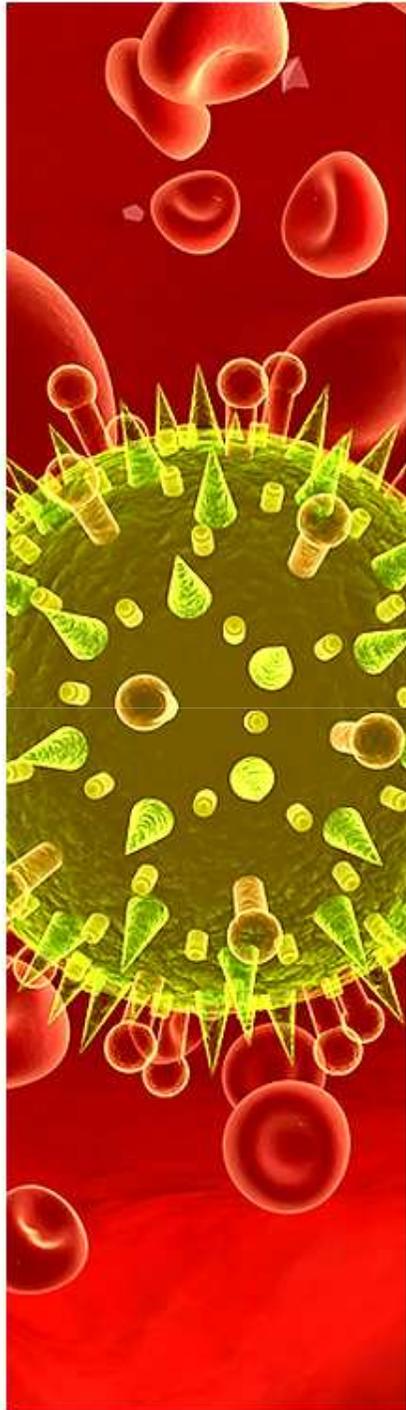


**Nuevas aminas policíclicas
contra el virus de la gripe:
Diseño, síntesis y actividad antiviral**

Dr. Santi Vázquez

Lab. Química Farmacéutica



La gripe

- **Enfermedad epidémica, estacional, altamente contagiosa, causada por los virus influenza A, B y C.**
- **Síntomas (A y B): fiebre alta, cefalea intensa, mialgia, dolor lumbar, malestar general.**
- **Evolución benigna (10 días, analgésicos y antitérmicos).**
- **Complicaciones pulmonares (neumonías virales o bacterianas secundarias) en grupos de riesgo (ancianos, neonatos, inmunosuprimidos).**
- **Entre las 10 primeras causas de muerte en USA (entre 20.000-40.000 fallecimientos anuales).**
- **Colapso en urgencias y centros de salud. USA: 200.000 hospitalizaciones/año con coste de 12.000×10^6 USD.**
- **Problema económico: bajas laborales, pérdida de productividad. 69 millones de días perdidos / año (USA).**
- **Posibilidad de pandemias.**

Virus de la gripe: estructura

Virus Envuelto , 80-120 nm diámetro

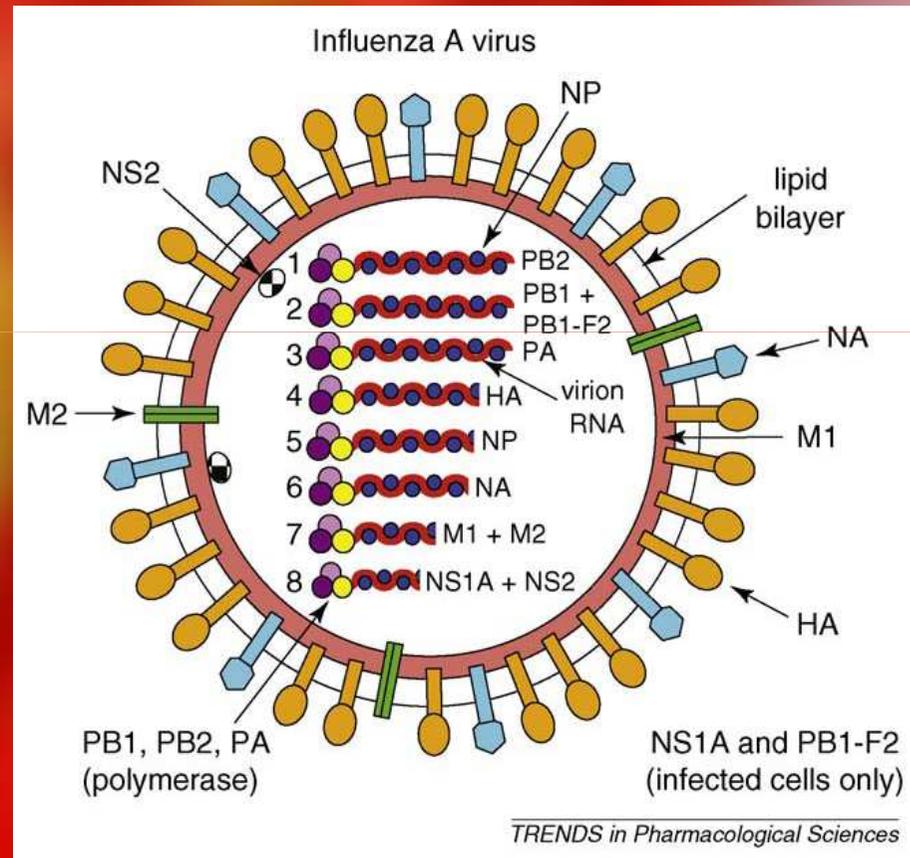
Genoma: ARN simple segmentado
(8 seg en IA e IB)
(7 seg en IC)

Glicoproteínas de Superficie:

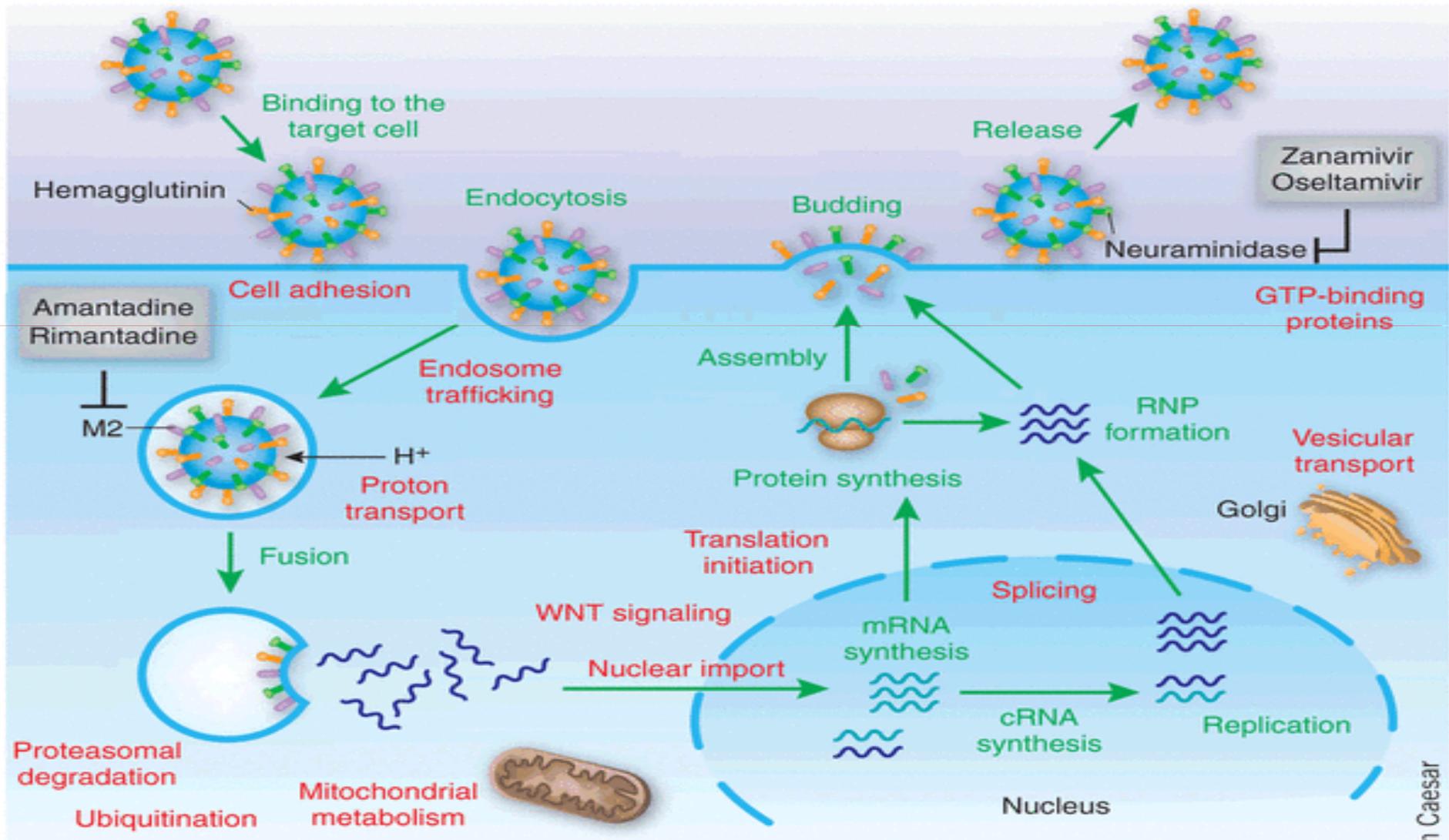
Hemaglutinina (HA)
Neuraminidasa (NA)

Proteínas Estructurales:

Nucleoproteínas (NP)
Matrix (M1, M2)

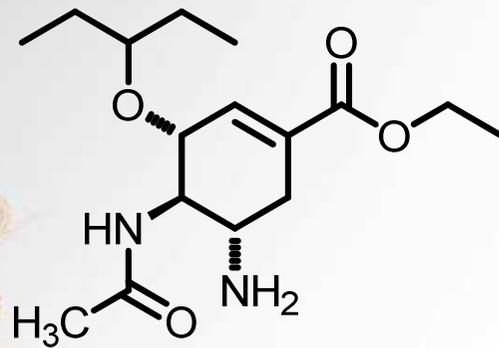


Virus de la gripe: ciclo

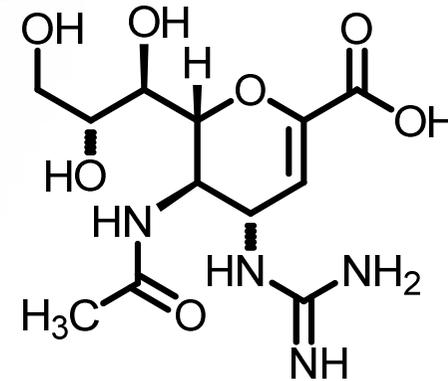


Antivirales

Inhibidores de la neuraminidasa

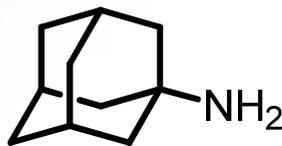


Oseltamivir

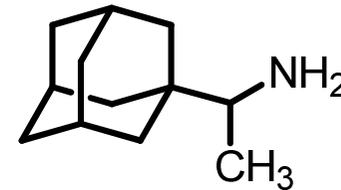


Zanamivir

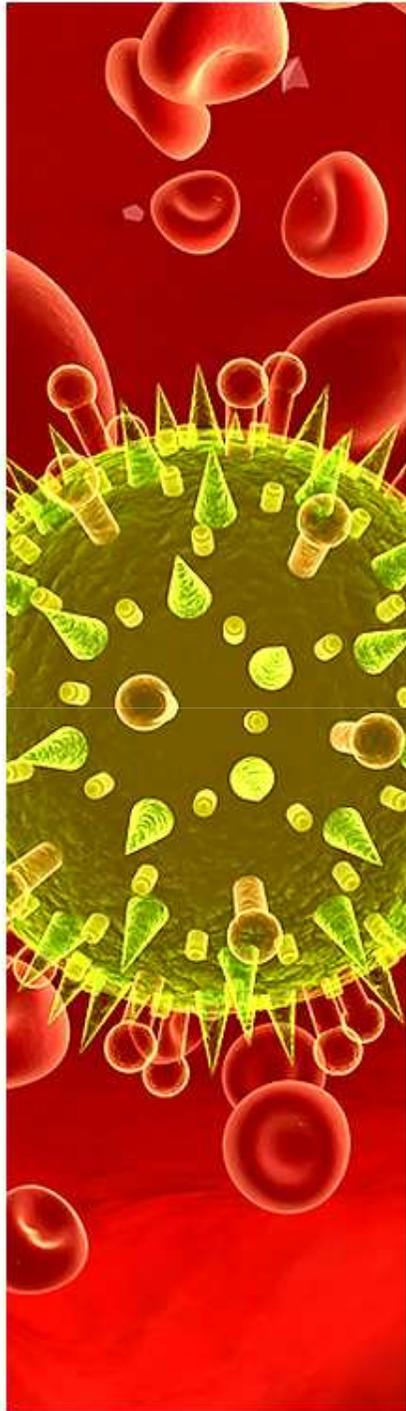
Bloqueadores del canal M2



Amantadina

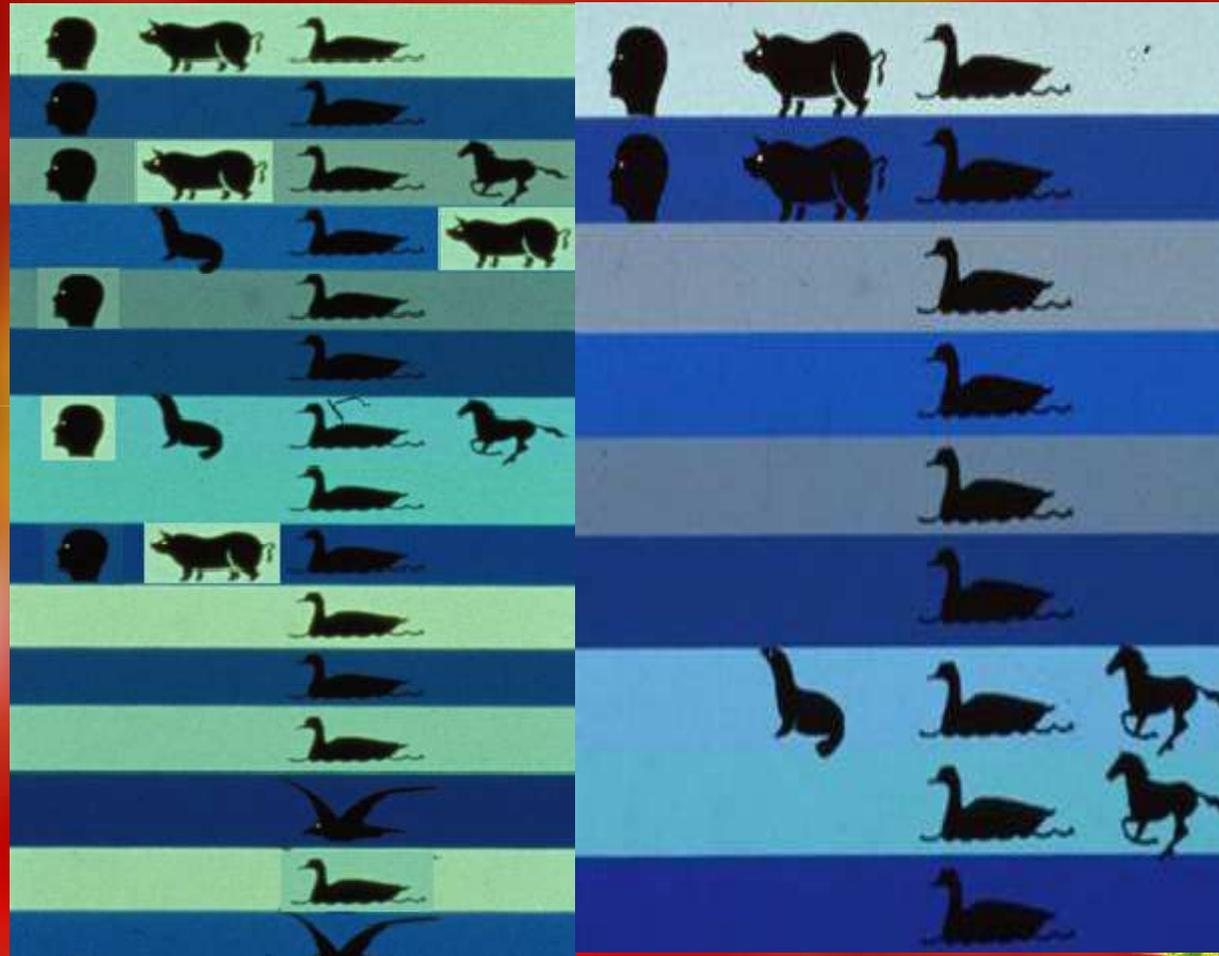


Rimantadina

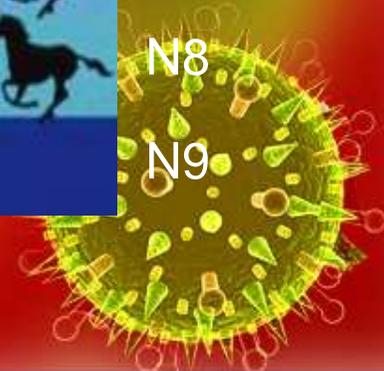


Virus de la gripe: subtipos HA y NA

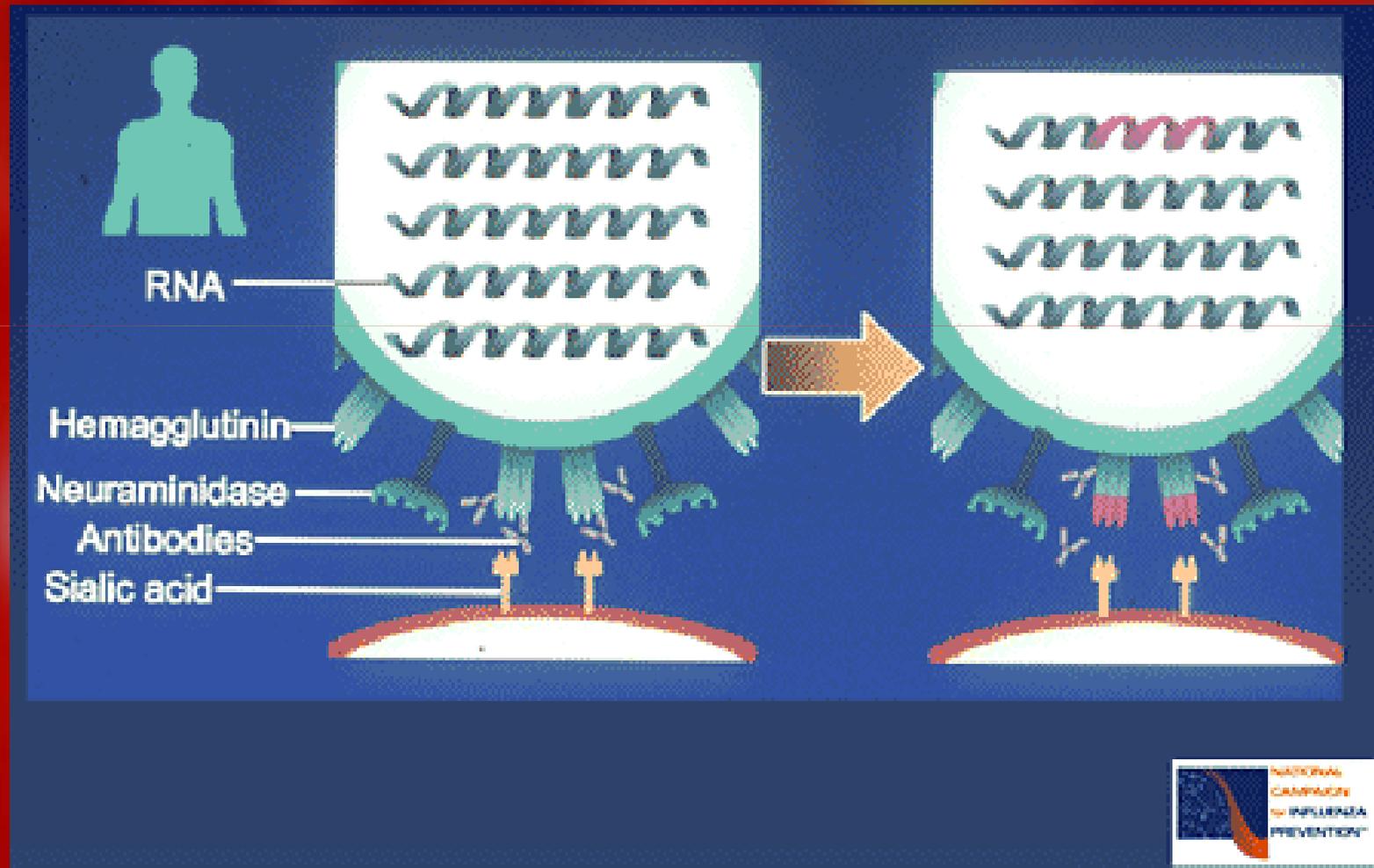
H1
H2
H3
H4
H5
H6
H7
H8
H9
H10
H11
H12
H13
H14
H15, 16



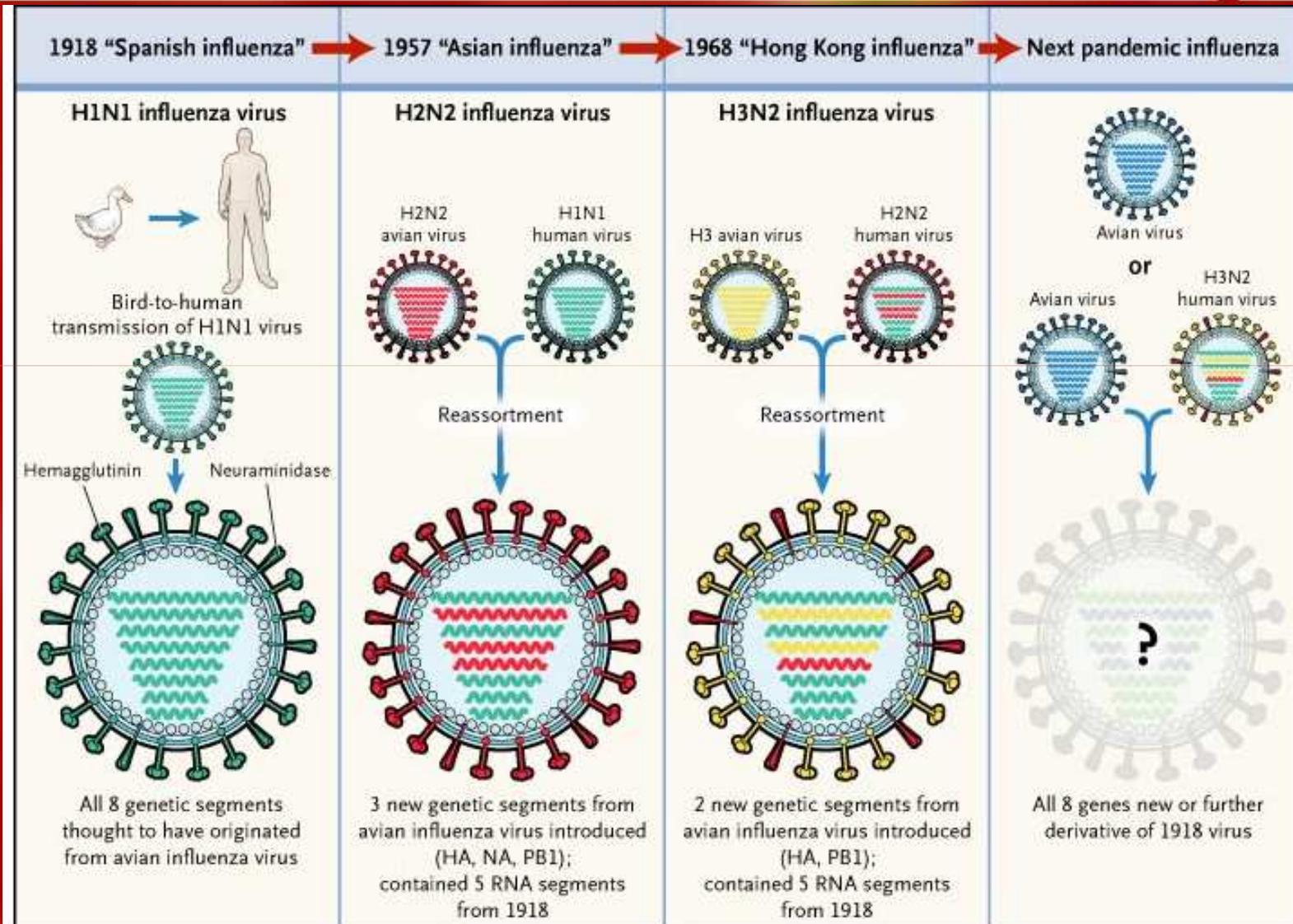
HXNY



Nuevos virus. Cambios en la secuencia de aminoácidos: deriva antigénica, "drifts"



Nuevos virus de la gripe. Saltos inter-especie y saltos antigénicos, "shifts": pandemias del siglo XX



Nuevas pandemias: gripe aviar (H5N1)

1997: Hong Kong A/H5N1/avian.
AGRESIVA.

2003: Infecciones en hombres.

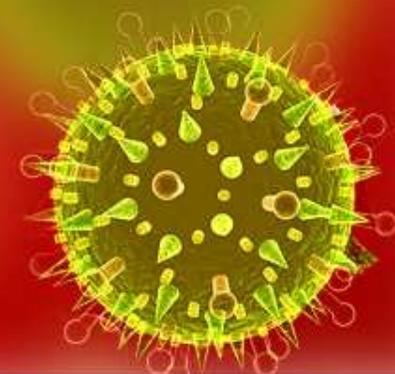
Hasta 19/11/2010: 508 casos, 15
países (302 muertos).

De momento esta cepa NO se
transmite de persona a persona,
pero...

una mutación podría hacerla
fácilmente transmisible entre
humanos.



Nuevas pandemias: gripe aviar (H5N1)



Nuevas pandemias: gripe del cerdo

- En 2009 apareció en Norteamérica una nueva variante de la cepa H1N1.
- Esta nueva cepa procedía de la combinación en el cerdo de ¡4 cepas diferentes!



+



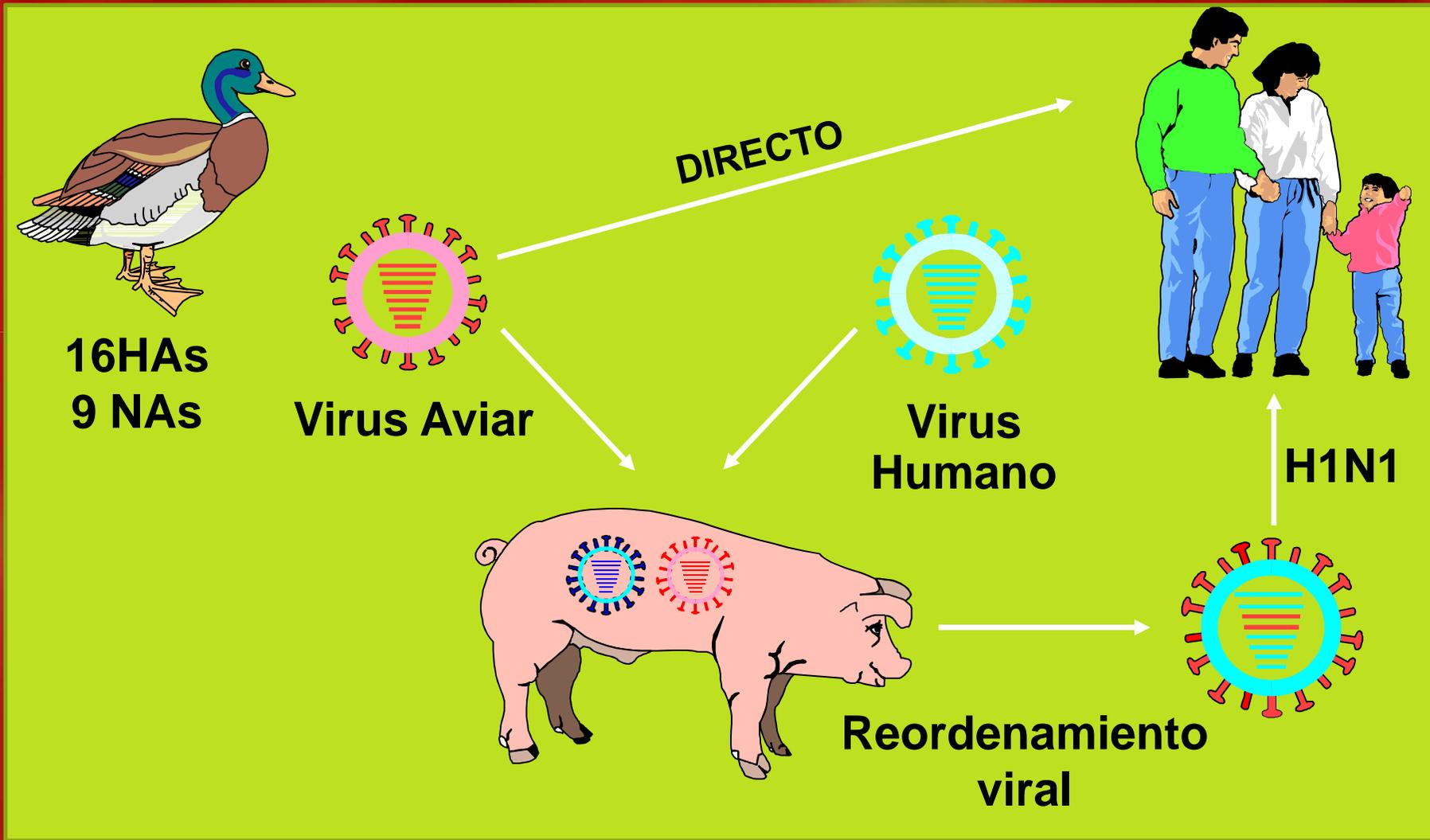
+

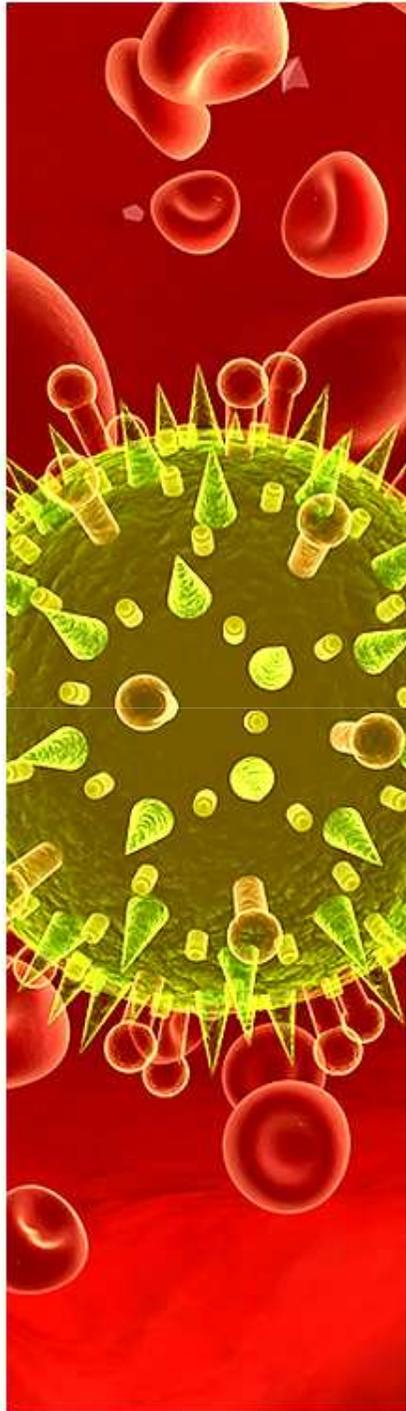


+



Nuevas pandemias: gripe del cerdo (H1N1)



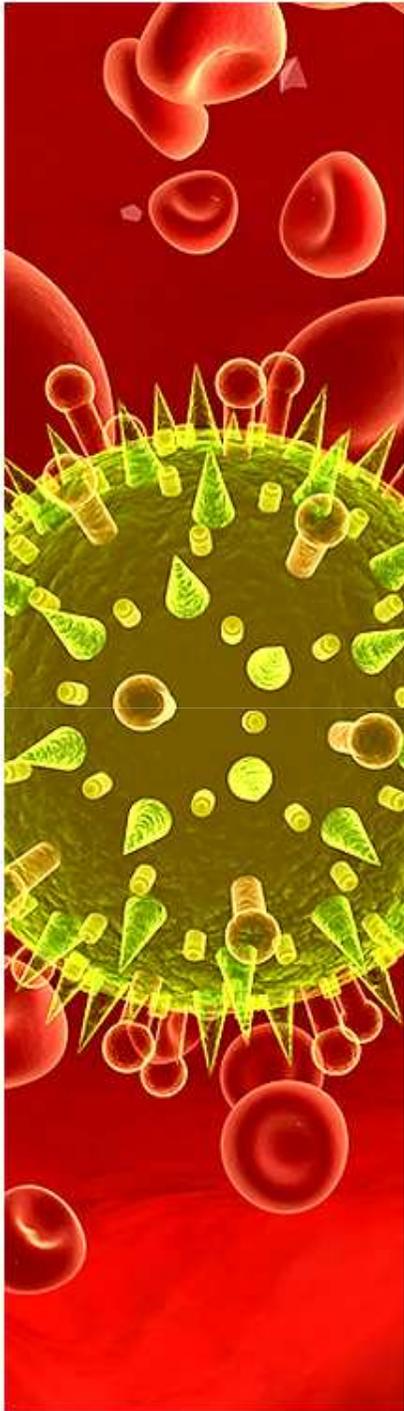


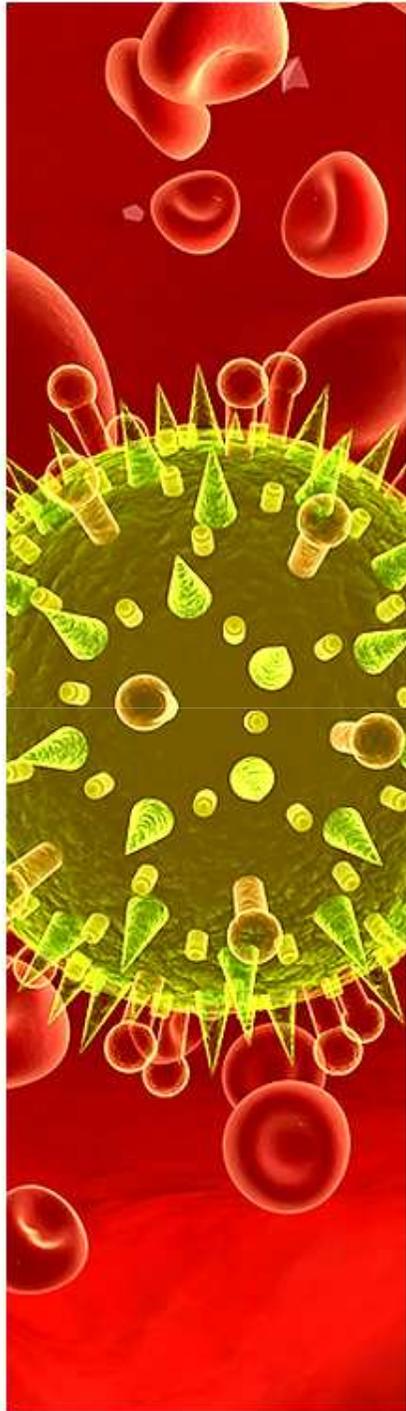
Nuevas pandemias: gripe del cerdo (H1N1)

- **Inicio: México, marzo/2009.**
- **Vacuna: junio/2009 (Novartis).**
- **OMS: junio/2009 “pandemia”**
- **Vacuna: septiembre/2009.**
- **Fin: Agosto/2010.**
- **Afectó más a jóvenes.**
- **Elevada morbilidad, pero baja mortalidad (<4%). 19.000 muertos.**
- **Resistente a bloqueadores de la M2.**
- **Sensible a inhibidores de la NA.**

Nuevas pandemias: gripe del cerdo (H1N1)

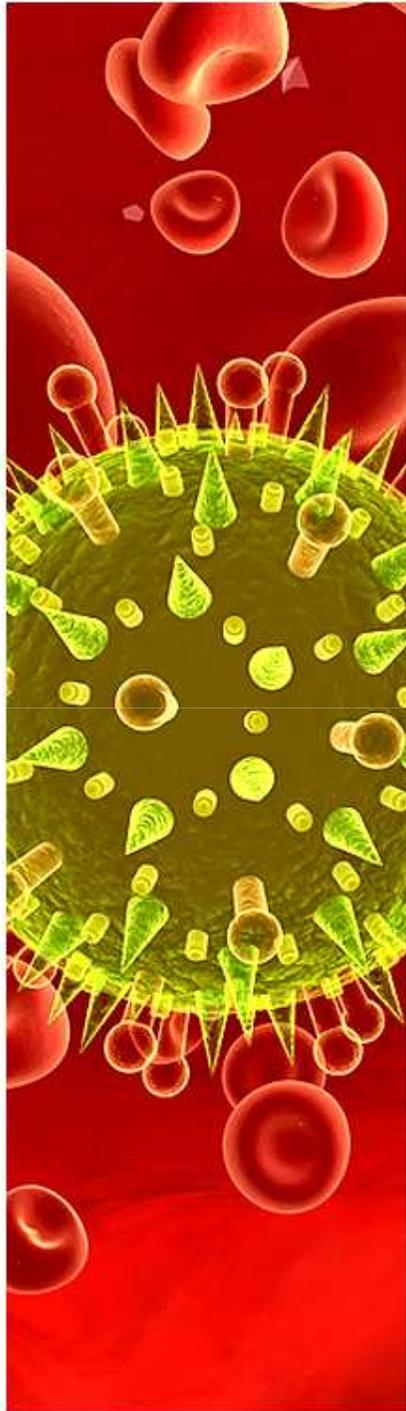
- ¿Gestión política inadecuada?
- Descrédito de la OMS y de las autoridades sanitarias.





¿Pueden producirse nuevas pandemias?

- La población humana ha pasado de 1000 a 6000 millones.
- Hay más aglomeraciones urbanas.
- Las condiciones de granjas porcinas y aviares favorecen la aparición de epidemias.
- Se mantiene la proximidad hombre-animal en muchos países.
- Viajes intercontinentales crecen.
- Estadísticamente, desde 1580, se han producido unas 3-4 pandemias de gripe cada siglo.



¿Pueden producirse nuevas pandemias?

- La OMS considera que una nueva pandemia es **IMPREDECIBLE** e **INEVITABLE**.
- Pocos fármacos y muchas cepas son resistentes.
- Son **IMPRESINDIBLES** nuevos antivirales.

Vacunas y antivirales

- **Vacunas:** mejor opción, pero un nuevo virus no podría protegerse con las vacunas actuales.
- **Vacunas:** 3-4 meses necesarios para identificar el virus y preparar la vacuna. Otros 3 meses para ensayos y producción.
- **Antivirales:** bloqueadores de la M2, e inhibidores de la neuroaminidasa.



Inhibidores de la neuraminidasa

Zanamivir (GSK) y oseltamivir (Gilead/Roche) fueron aprobados por la FDA en 1999.

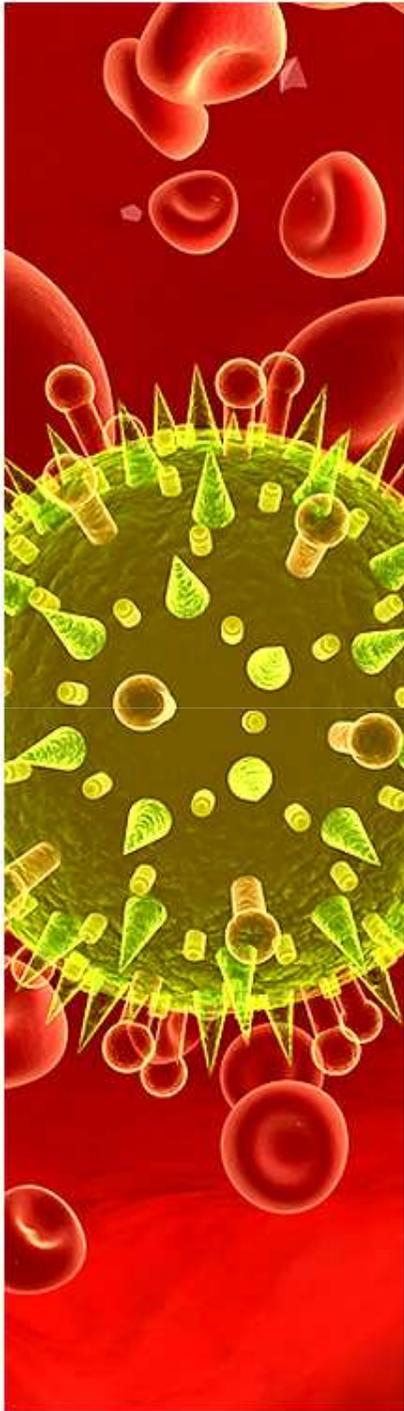
Ambos compuestos fueron fruto de un diseño racional a partir de la estructura 3-D de la neuraminidasa del virus de la gripe.

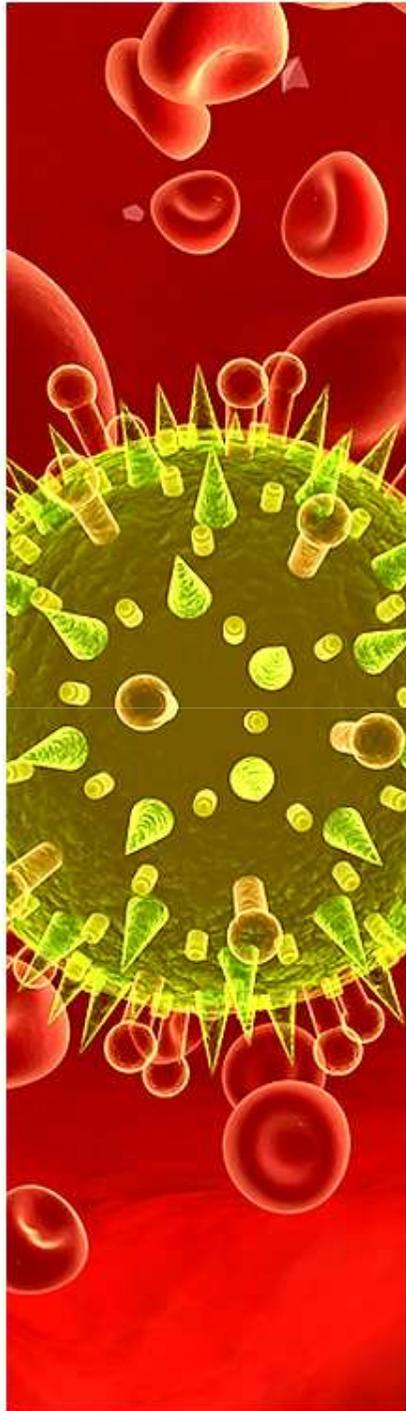
Son eficaces contra la gran mayoría de las cepas del virus de la gripe A y B.

Pocos efectos secundarios.

De momento, pocas cepas resistentes y las que lo son muestra poca transmisibilidad.

Se han diseñado multitud de análogos: peramivir (aprobado para uso de emergencia, inyectable).





Bloqueadores del canal M2

Amantadina fue el primer antiviral aprobado por la FDA (1966).

Rimantadina (aprobado por la FDA en 1994) se usaba en la URSS y países satélites.

Su uso ha estado limitado por sus efectos secundarios a nivel de SNC.

No son activas frente al virus de la gripe B y, actualmente, la gran mayoría de cepas H3N2 y H1N1 son resistentes.

De hecho, la OMS no recomienda su uso.

El diseño de nuevos análogos se ha visto perjudicado porque se desconocía la estructura de la proteína M2.

Bloqueadores del canal M2

2008: Primeras estructuras del canal M2, con y sin amantadina.

Nature 2008, 591 (Chou) (RMN)

Nature 2008, 596 (DeGrado) (Rayos-X)

Biochemistry 2008: 9934

PNAS 2008: 1483 & 10967

Biochemistry 2009: 696, 7356, 11872,

JACS 2009: 8066

J Mol. Biol. 2009: 12283

PNAS 2009: 1069, 7379, 12283, 18775

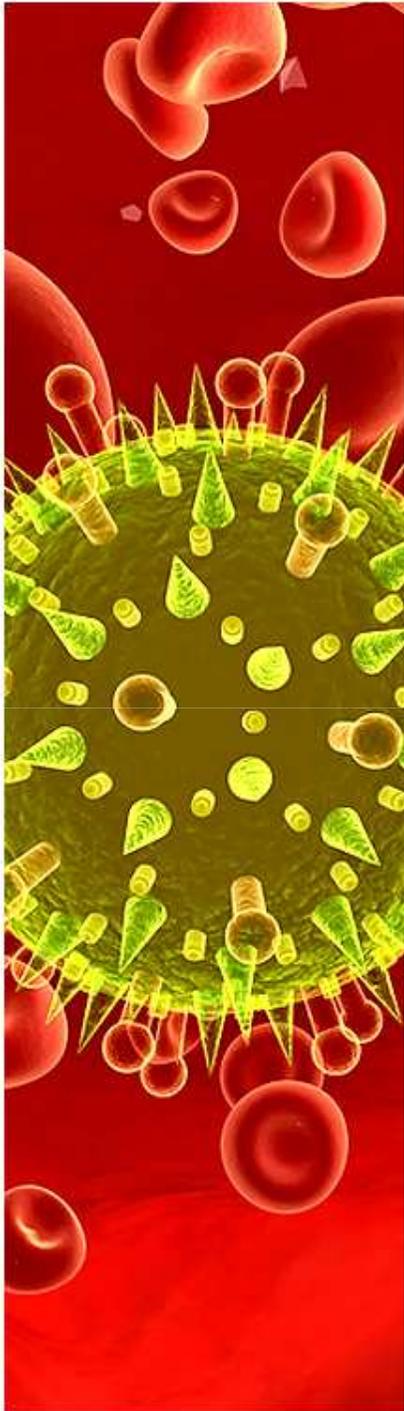
Biochemistry 2010: 10061

JACS 2010: 10958

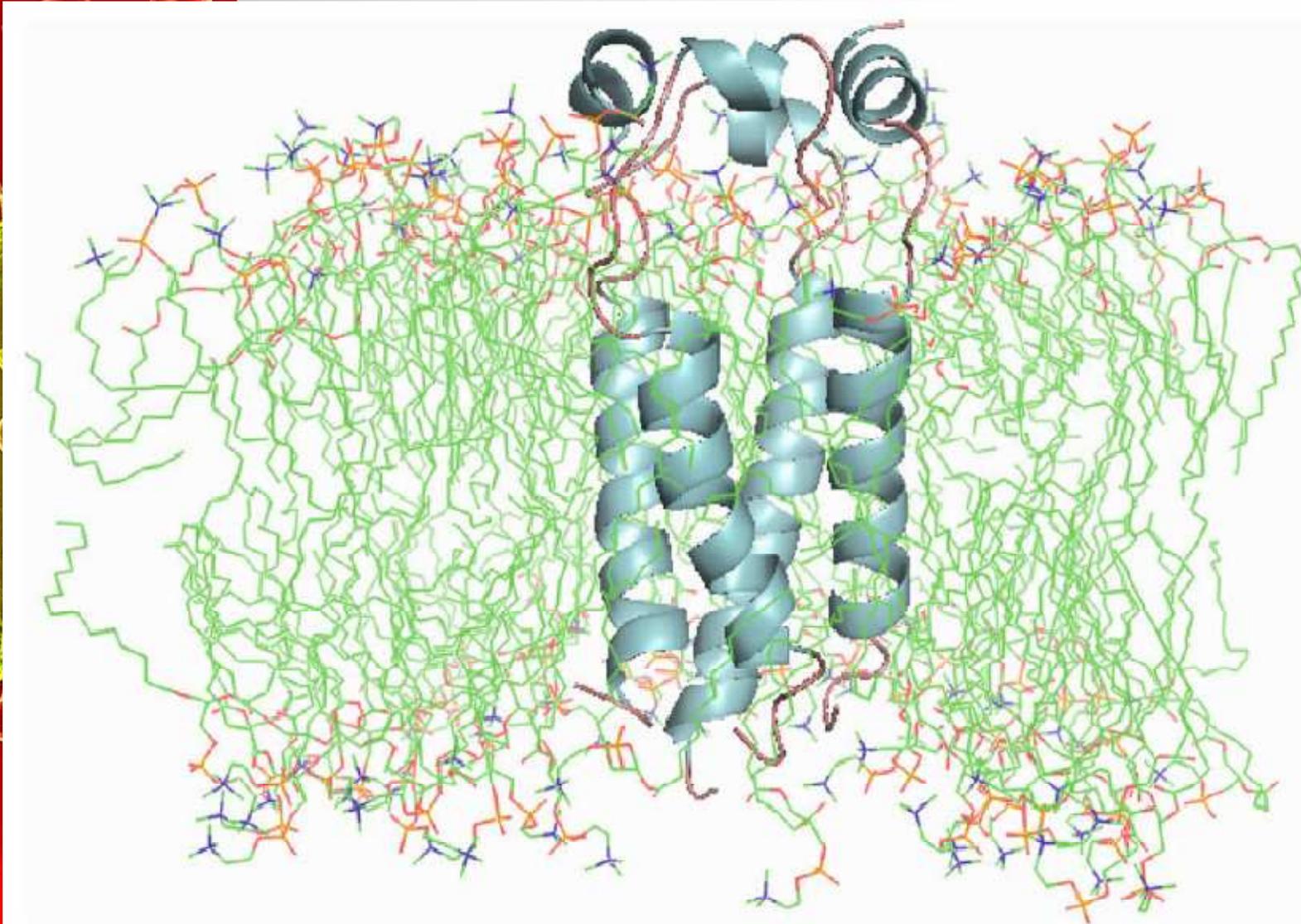
Nature 2010: 689

PNAS 2010: 15075

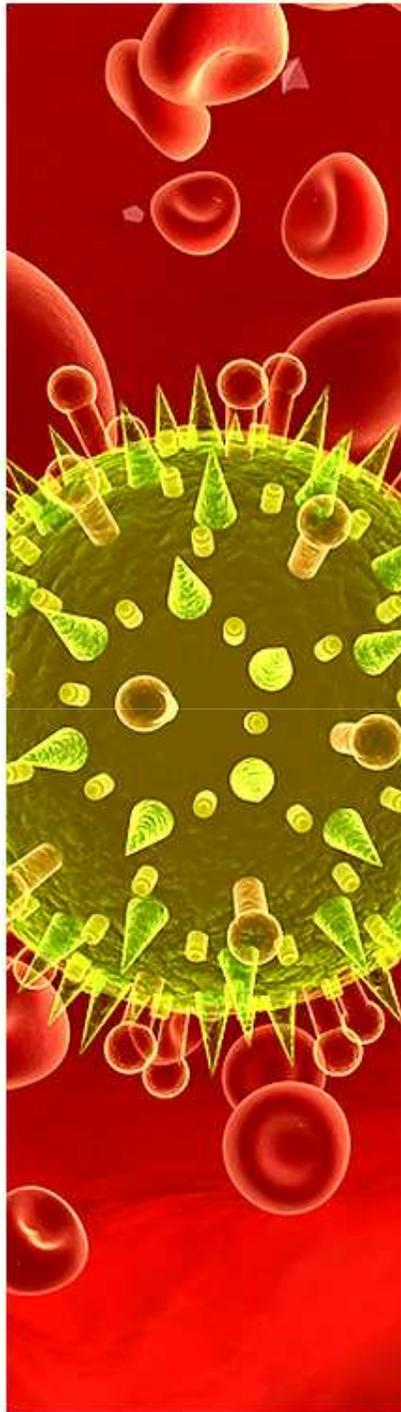
Science 2010: 456, 505, 509



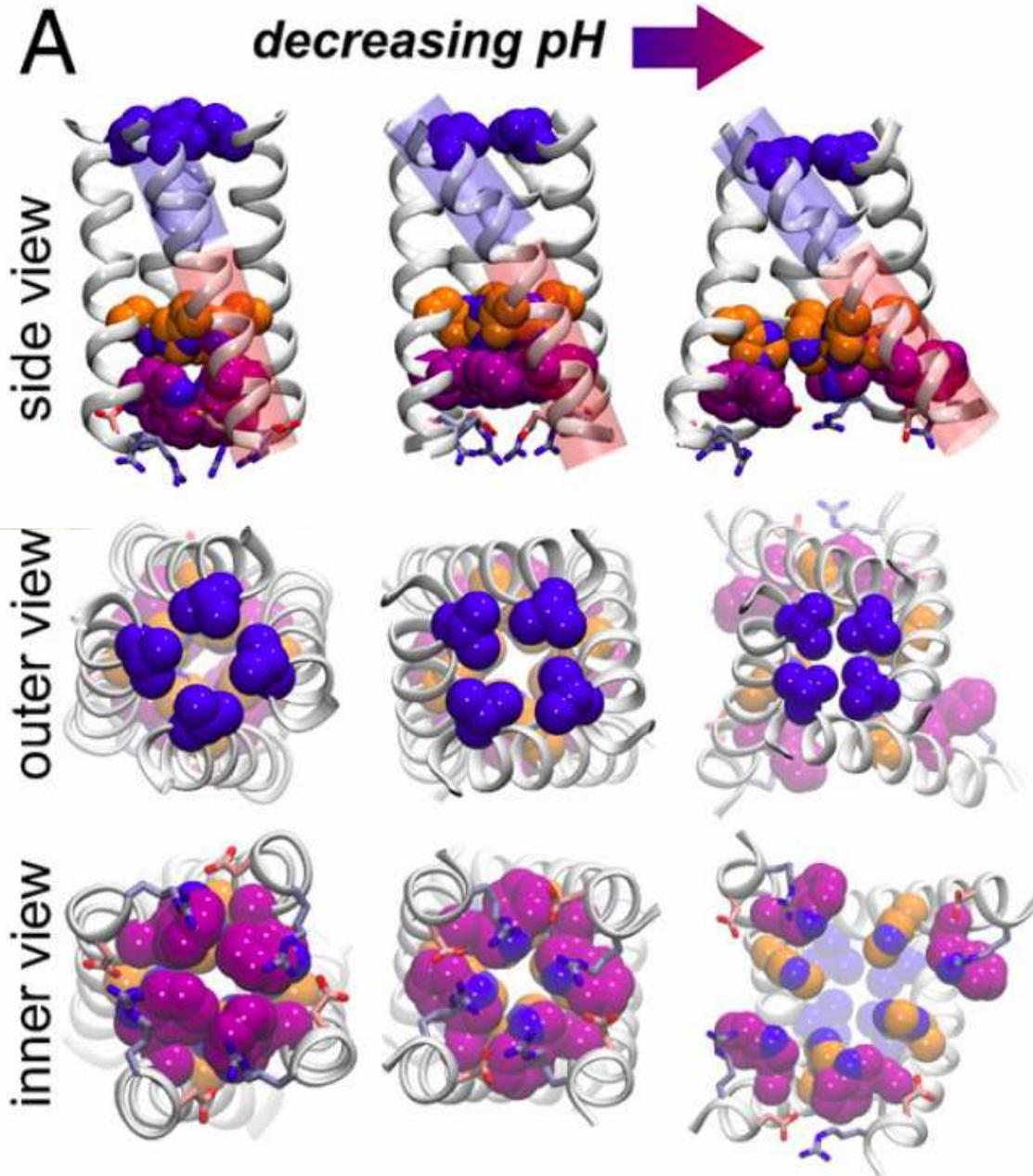
Canal M2: estructura



DeGrado et al. *Nature* **2008**, 451, 591



Canal M2: funcionamiento



Val 27

Ser 31

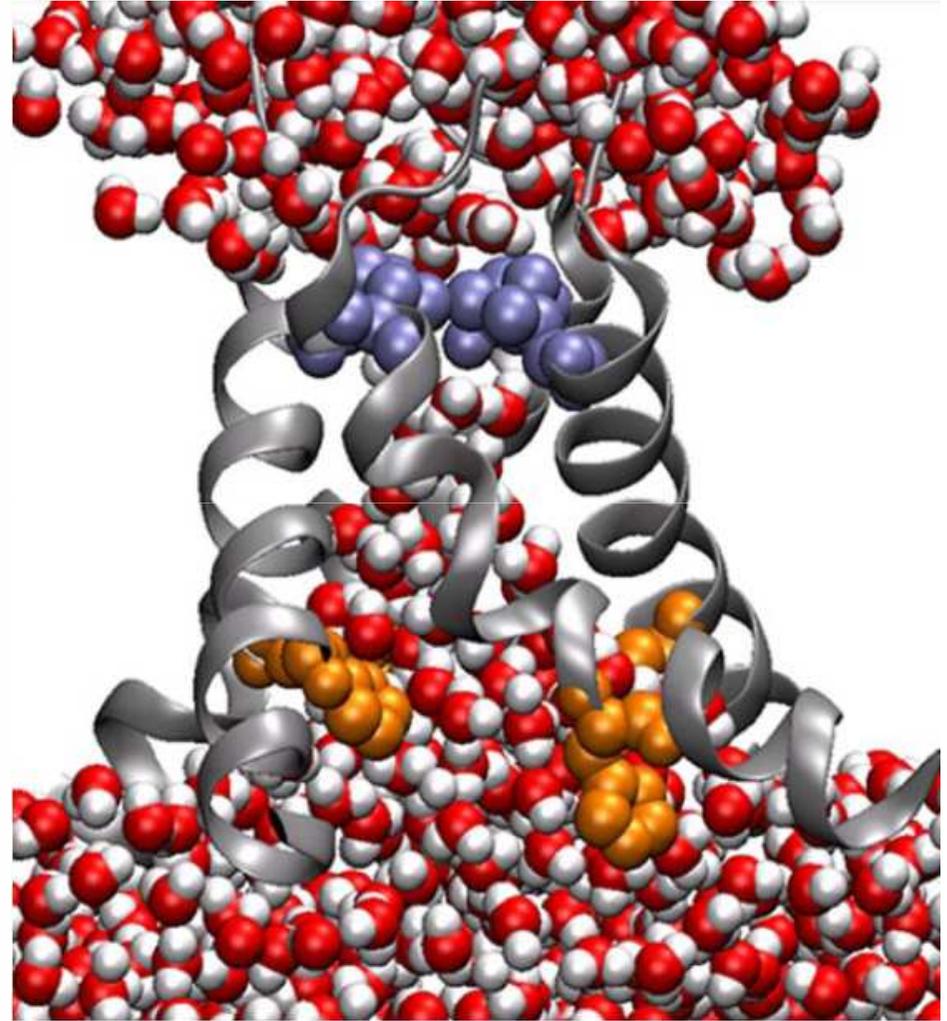
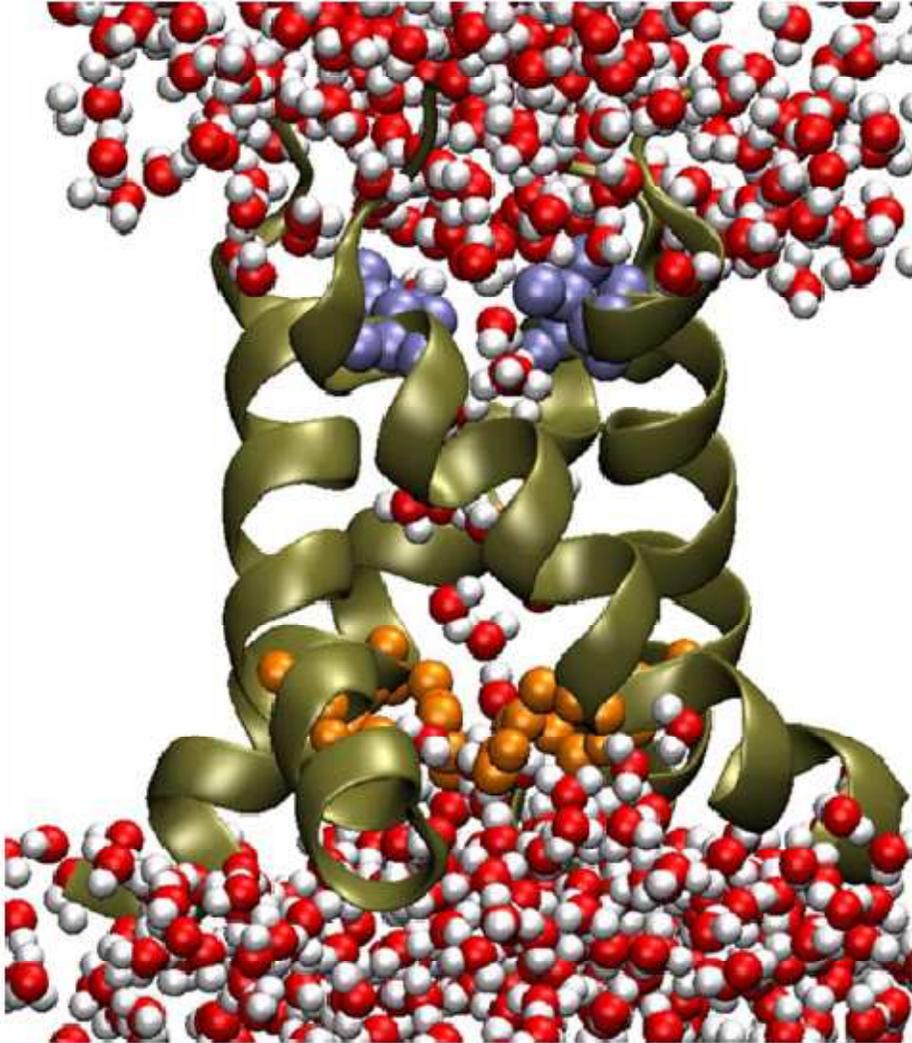
His 37

Trp 41

Pinto, Klein,
DeGrado
PNAS 2010,
107, 15075

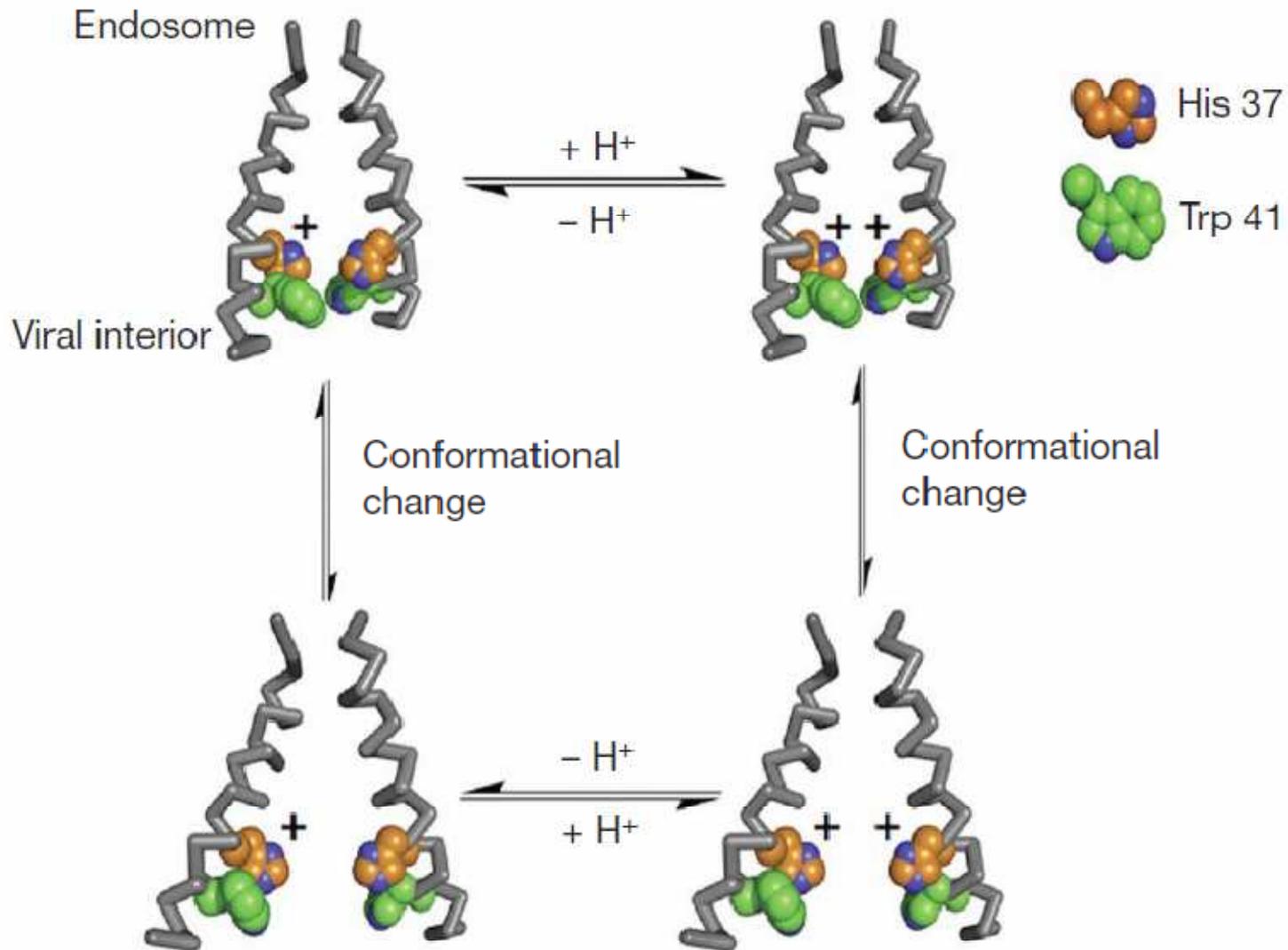


Canal M2: funcionamiento

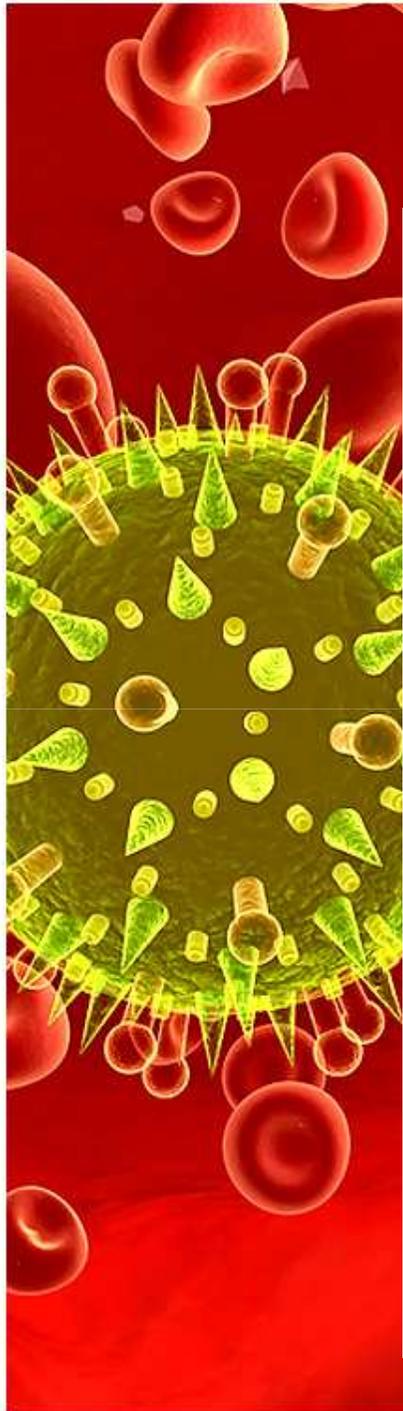


DeGrado, Klein et al. *PNAS* **2009**, *106*, 1069

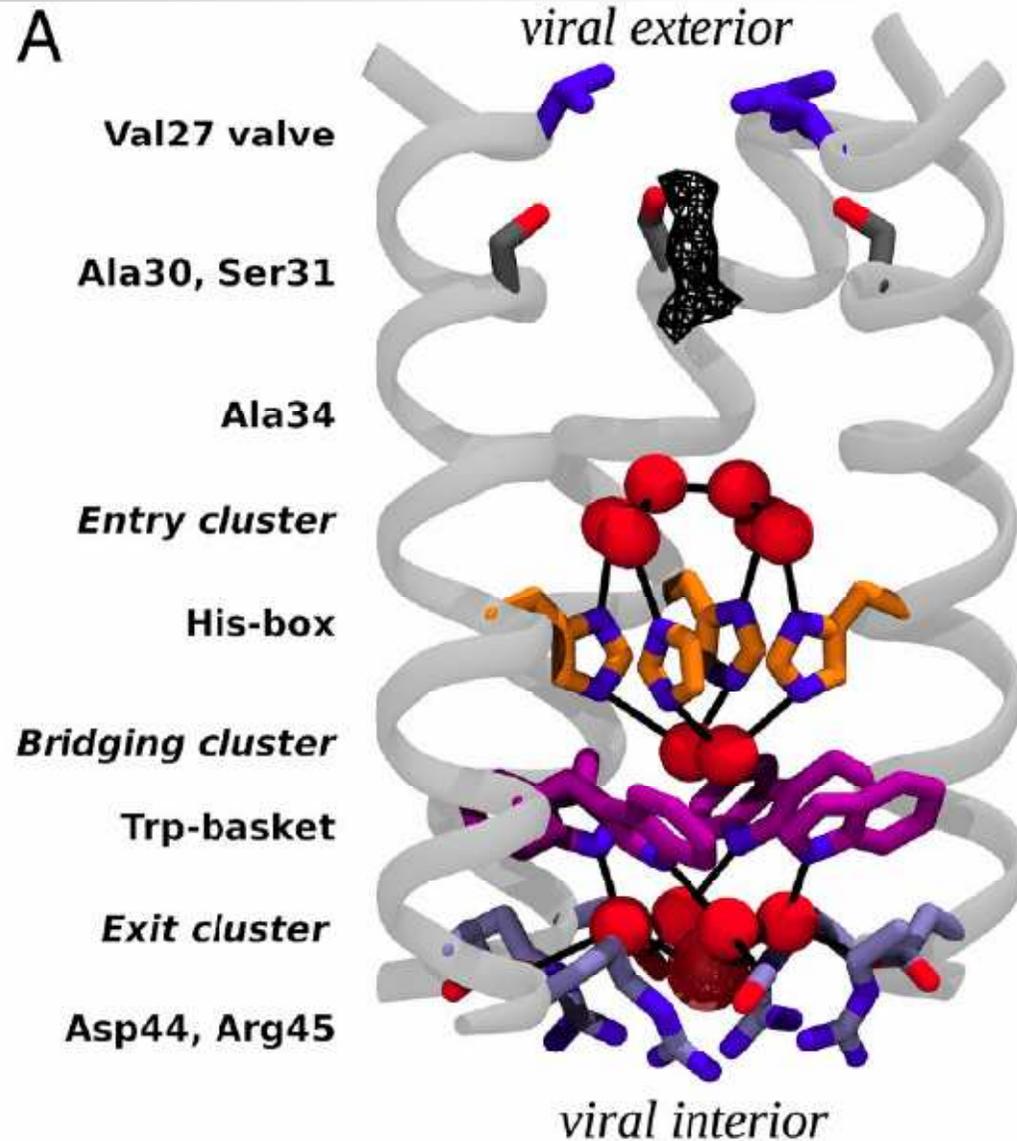
Canal M2: funcionamiento



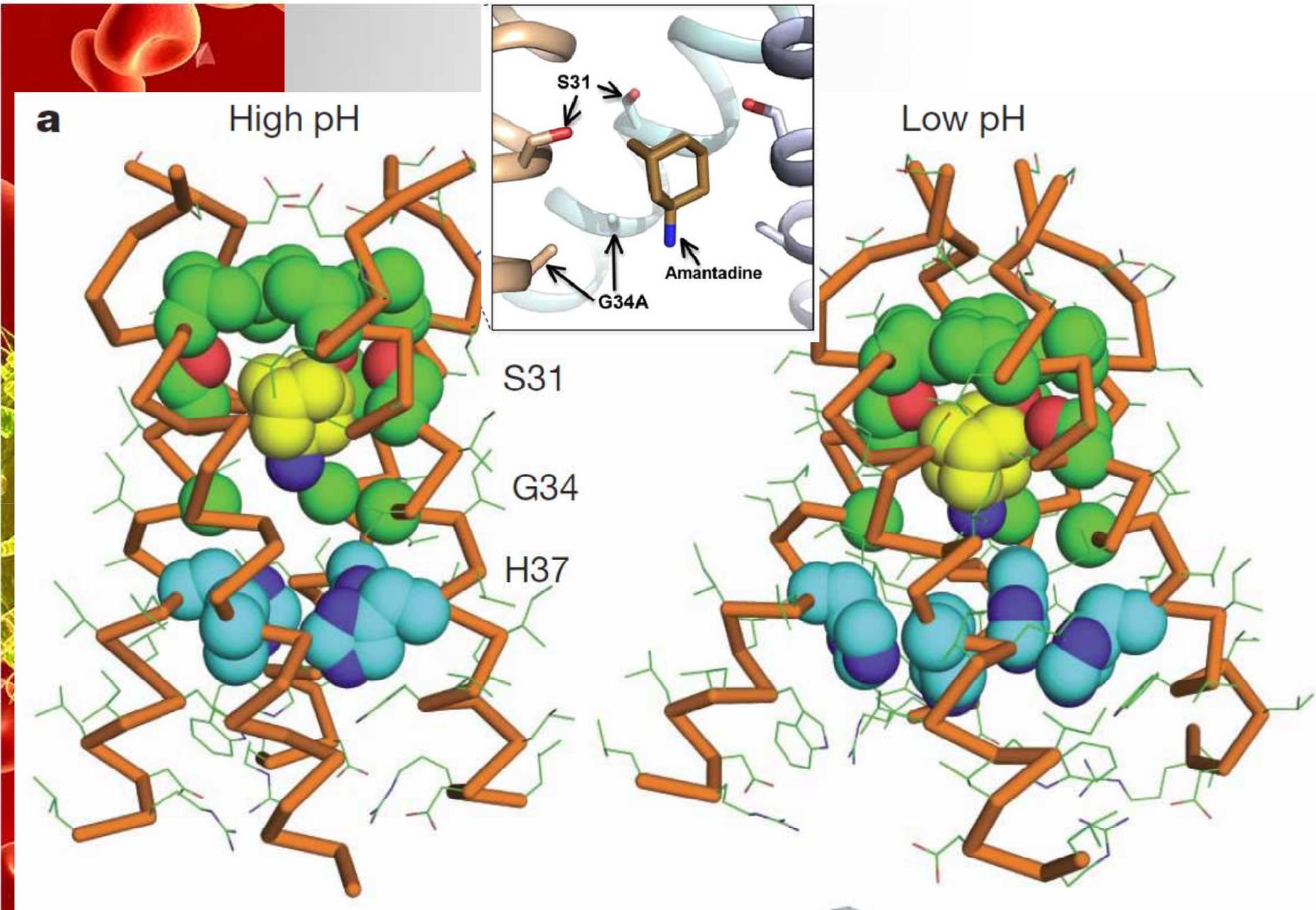
DeGrado et al. *Nature* **2008**, 451, 596



Canal M2: inhibición por amantadina

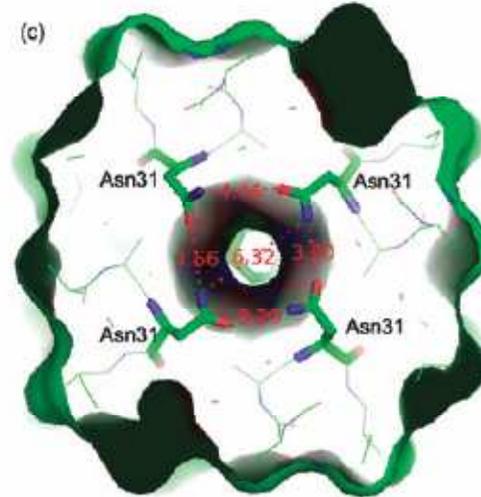
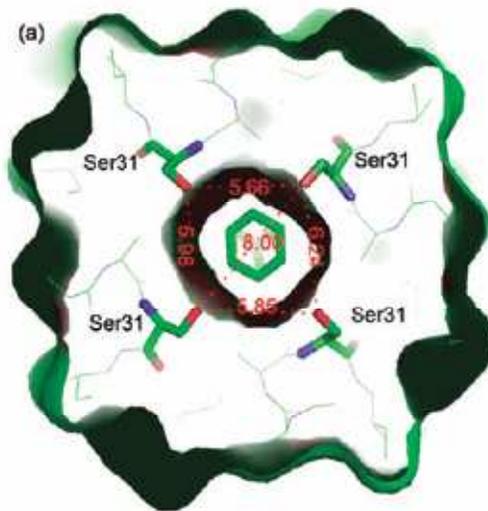
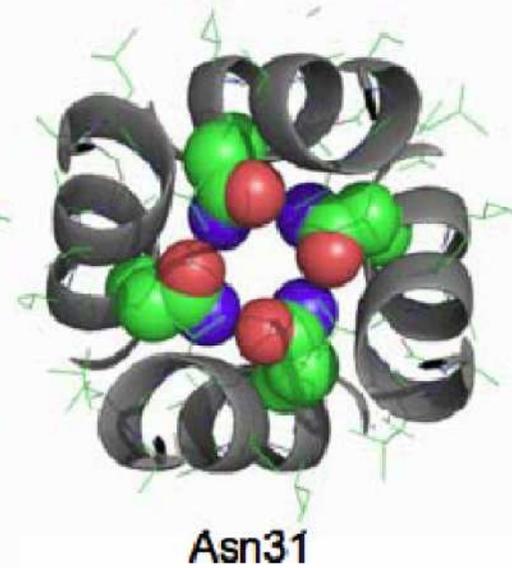
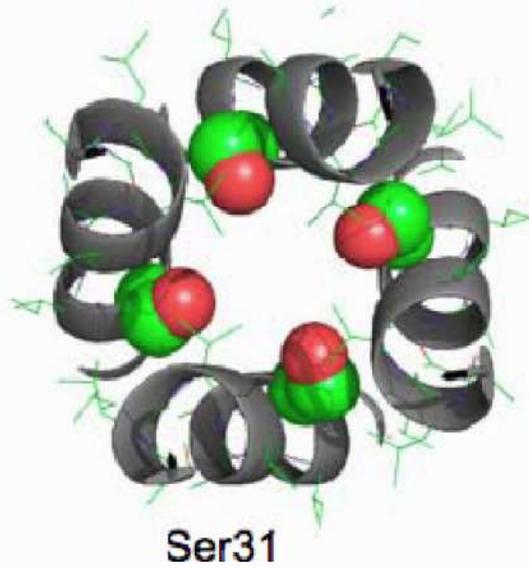
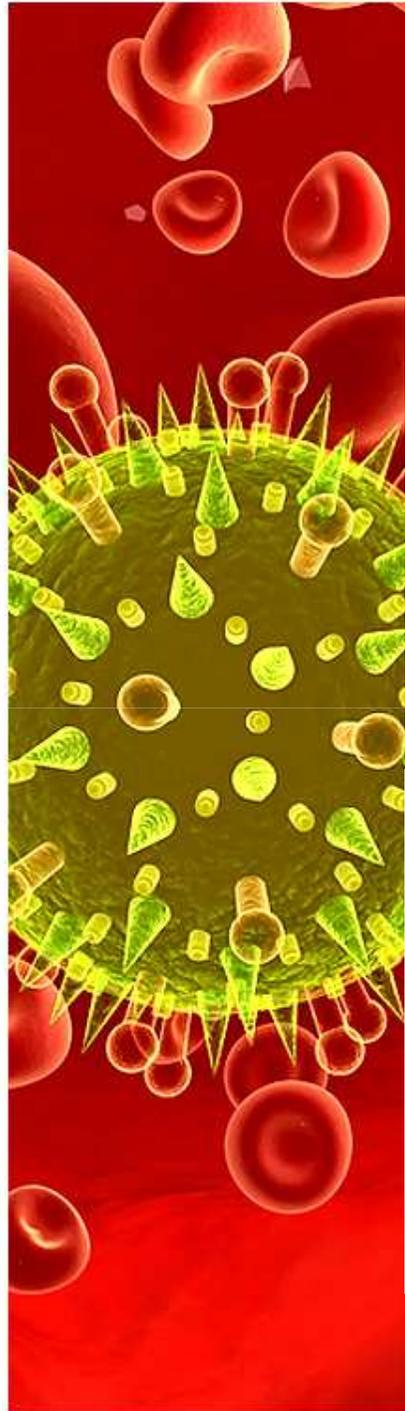


Pinto, Klein,
DeGrado *PNAS*
2010, 107, 15075



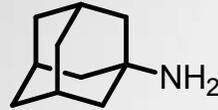
Hong, DeGrado *Nature* **2009**, 463, 689

Canal M2: mutación S31N



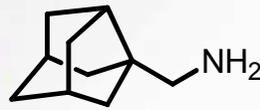
DeGrado, *Nature*
2008, 451, 596
Jiang
J.Phys.Chem.B
2010, 114, 8487

Análogos de amantadina

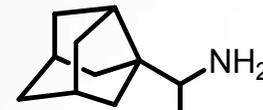


Amantadina

| | | |
|------------------------|-------------------|--|
| A/PR/8/31 (H1N1, S31N) | 77 μM | Lieve Naesens (Rega Institute Leuven, Bélgica) |
| A/HK/7/87 (H3N2, wt) | 14 μM | |
| Canal M2 | 16 μM | Larry Pinto (Northwestern Univ. Illinois, USA) |
| Canal M2 (S31N) | 200 μM | |



4



7

| | | |
|-----------------|------------------|------------------|
| H1N1 (S31N) | 36 μM | NA |
| H3N2 (wt) | 9 μM | 13 μM |
| Canal M2 (wt) | 7 μM | 13 μM |
| Canal M2 (S31N) | NA | NA |

Naesens, Pinto, Luque, Vázquez et al, *J. Med. Chem.* (enviado)

Análogos de amantadina



Amantadina

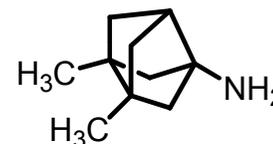
| | | |
|------------------------|-------------------|--|
| A/PR/8/31 (H1N1, S31N) | 77 μM | Lieve Naesens (Rega Institute Leuven, Bélgica) |
| A/HK/7/87 (H3N2, wt) | 14 μM | |
| Canal M2 | 16 μM | Larry Pinto (Northwestern Univ. Illinois, USA) |
| Canal M2 (S31N) | 200 μM | |



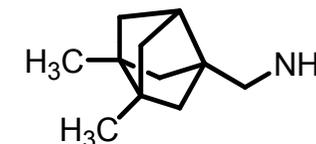
4



7



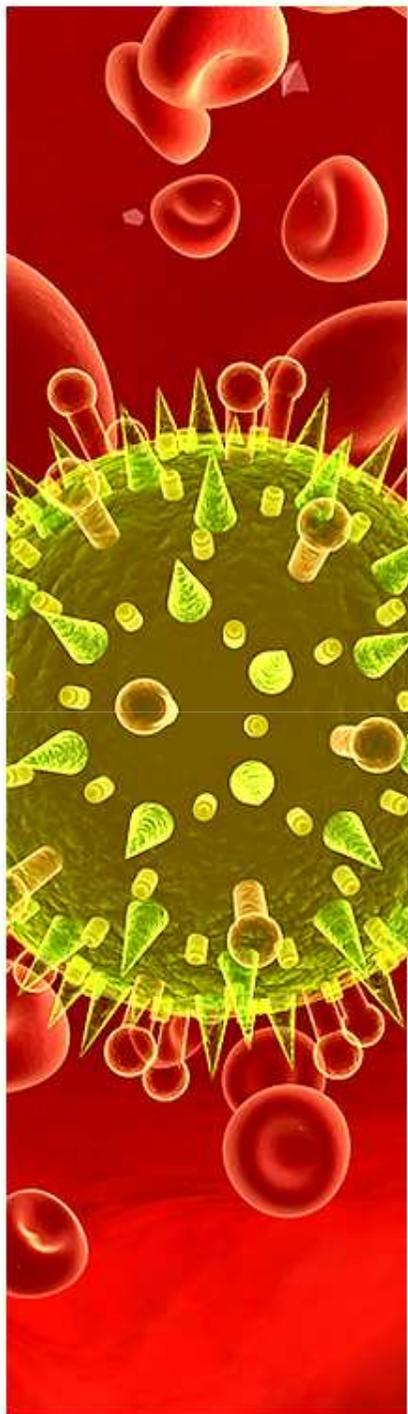
8



9

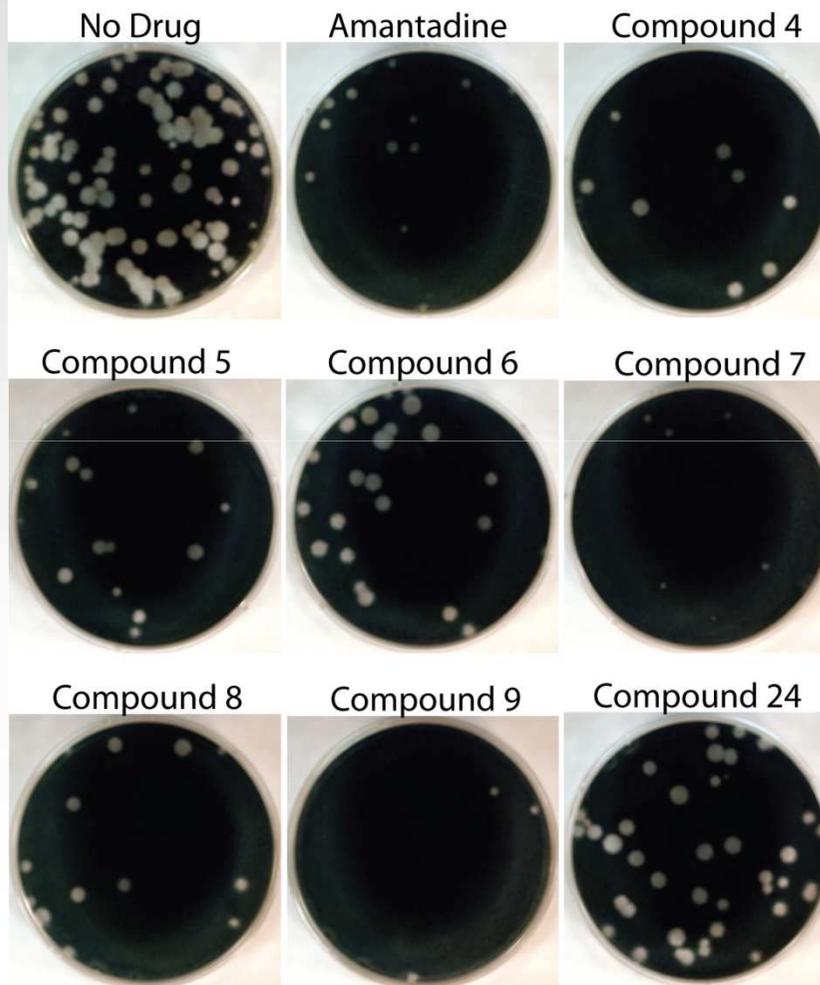
| | | | | |
|-----------------|------------------|------------------|-------------------|-------------------|
| H1N1 (S31N) | 36 μM | NA | NA | NA |
| H3N2 (wt) | 9 μM | 13 μM | 24 μM | 6.5 μM |
| Canal M2 (wt) | 7 μM | 13 μM | 17 μM | 7 μM |
| Canal M2 (S31N) | NA | NA | 252 μM | NA |

Naesens, Pinto, Luque, Vázquez et al, *J. Med. Chem.* (enviado)

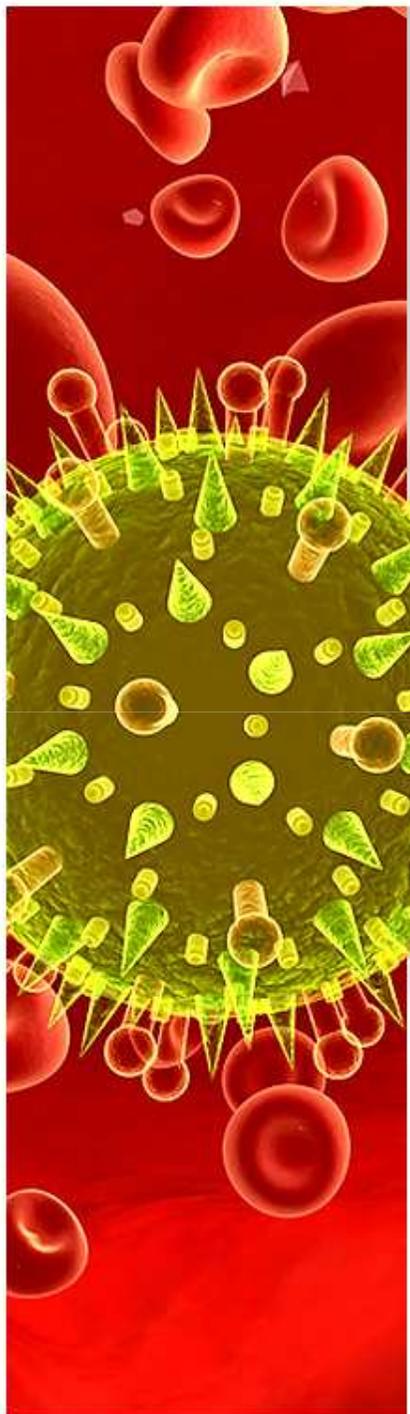


Análogos de amantadina

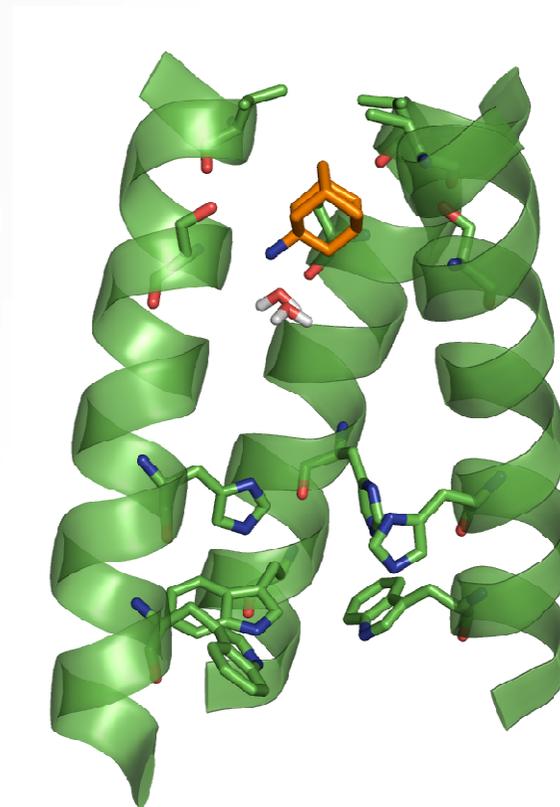
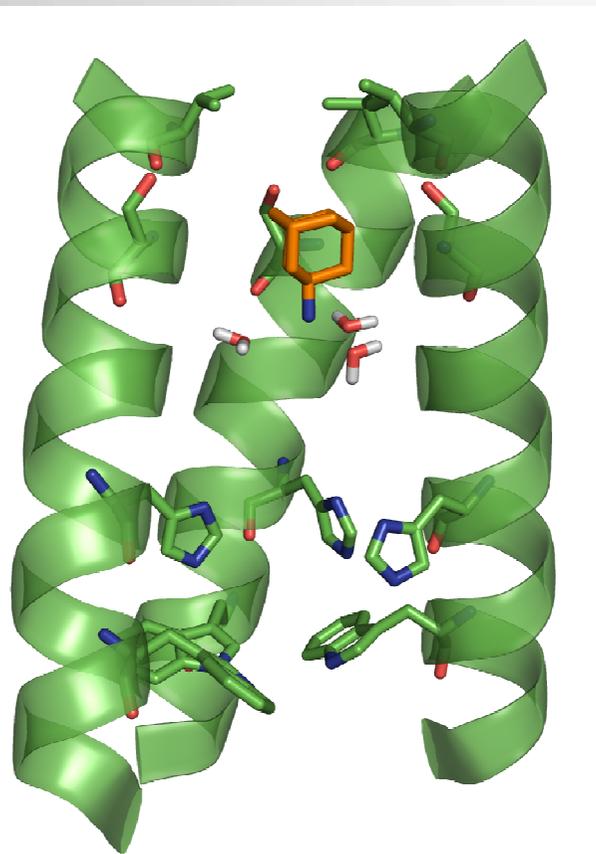
Udorn A/M2 wt



Naesens, Pinto, Luque, Vázquez et al, *J. Med. Chem.* (enviado)



Análogos de amantadina



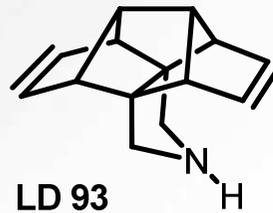
Naesens, Pinto, Luque, Vázquez et al, *J. Med. Chem.* (enviado)

Análogos de amantadina

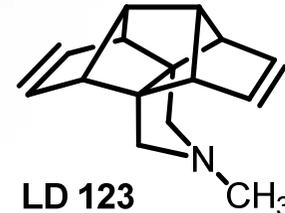


Amantadina

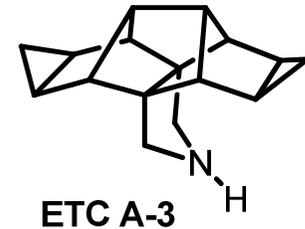
| | | |
|------------------------|-------------------|--|
| A/PR/8/31 (H1N1, S31N) | 77 μM | Lieve Naesens (Rega Institute Leuven, Bélgica) |
| A/HK/7/87 (H3N2, wt) | 14 μM | |
| Canal M2 | 16 μM | Larry Pinto (Northwestern Univ. Illinois, USA) |
| Canal M2 (S31N) | 200 μM | |



LD 93



LD 123

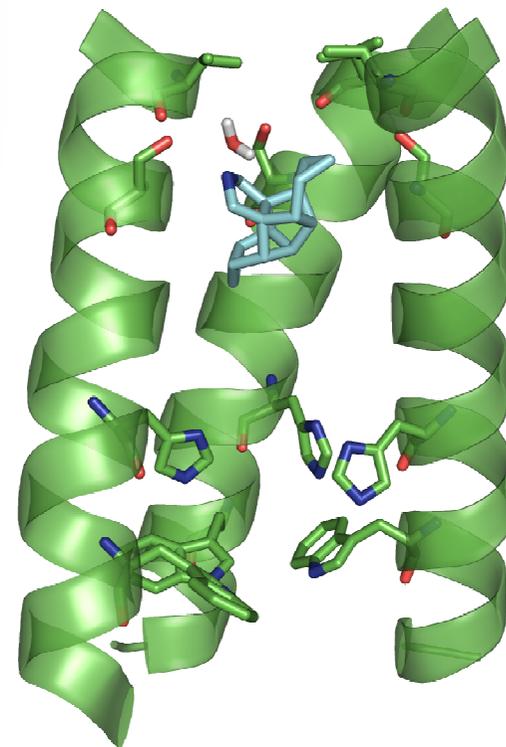
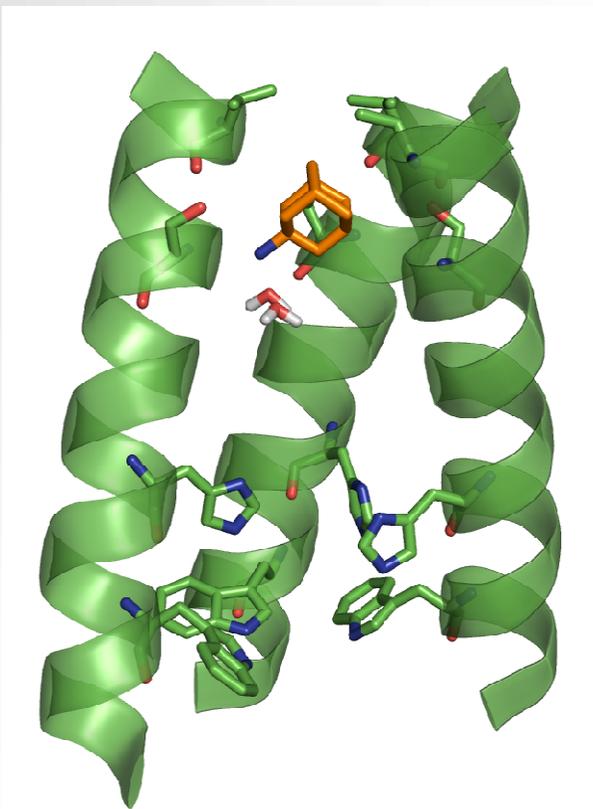
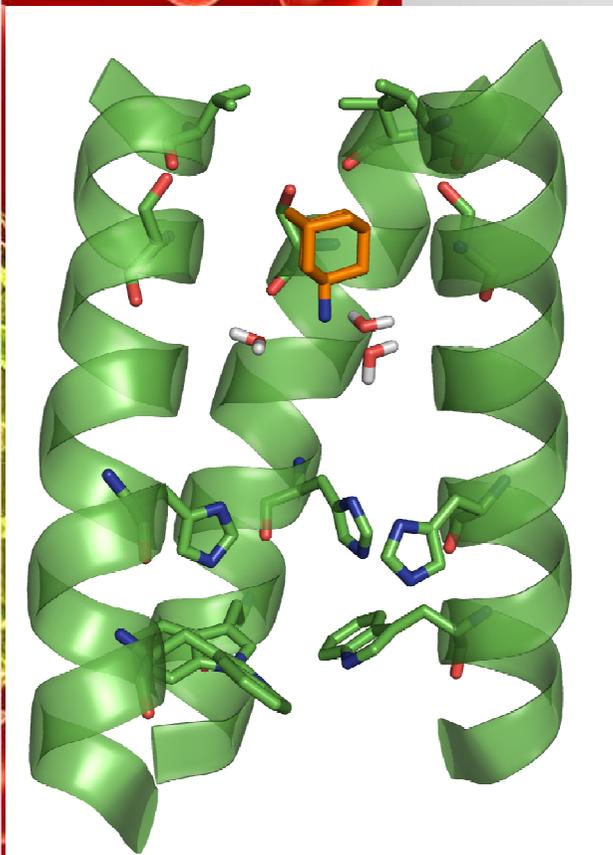


ETC A-3

| | | | |
|-----------------|------------------|-----------------|-------------------|
| H1N1 (S31N) | 25 μM | 1 μM | 0.5 μM |
| H3N2 (wt) | 35 μM | NA | 20 μM |
| Canal M2 (wt) | 33 μM | NA | 24 μM |
| Canal M2 (S31N) | NA | NA | NA |

Naesens, Pinto, Luque, Vázquez et al, *J. Med. Chem.* (enviado)

Análogos de amantadina



Naesens, Pinto, Luque, Vázquez et al, *J. Med. Chem.* (enviado)

Agradecimientos

- **Grupo de síntesis:**
 - Prof. Pelayo Camps
 - Dra. Loli Duque
 - Eva Torres (tesis en curso)
 - Dra. Lenuta Profire (post-doc, UE)
 - Matías Rey (tesis en curso)
 - Trabajos dirigidos: Elena Valverde, Salva Guardiola, Marta Barniol, Silvia Muntaner, Marta Frigolé y Rosana Leiva.
- **Grupo de modelización:**
 - Prof. Francisco Javier “Javi” Luque
 - Jordi Juárez (tesis en curso)
- **Grupos de farmacología y virólogos:**
 - Prof. Lieve Naesens (Rega Institute, Bélgica)
 - Prof. Lawrence H. Pinto y Dr. Chunlong Ma (Northwestern University, USA)
 - Prof. William F. DeGrado y Jun Wang (University of Pennsylvania, USA)