



Jordi Reina
Carla Iglesias

EDP-938, un nuevo antiviral con actividad inhibidora frente a la nucleoproteína del virus respiratorio sincitial

Unidad de Virología, Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Son Espases, Facultad de Medicina (UIB).
Palma de Mallorca.

Article history

Received: 12 September 2022; Revision Requested: 11 October 2022; Revision Received: 14 October 2022; Accepted: 27 October 2022; Published: 21 November 2022

RESUMEN

La ausencia de una vacuna eficaz frente al virus respiratorio sincitial (VRS) ha determinado el desarrollo de diversos fármacos con capacidad para inhibir o bloquear su actividad replicadora. Los de primera generación, denominados inhibidores de la fusión, se fijan a la proteína F de la superficie viral y evitan la unión y entrada del virus en la célula. Sin embargo su baja eficacia ha determinado el inicio de los estudios con los compuestos de segunda generación capaces de unirse o bloquear la nucleoproteína (N); la mayoría de estos compuestos son análogos de las 1,4-benzodiazepinas. El EDP-938 ha mostrado una elevada eficacia frente al VRS. Los primeros ensayos realizados en humanos han mostrado que este antiviral se absorbe de forma rápida tras su administración oral y presenta una vida media de entre 11-18 horas. La administración durante siete días de múltiples dosis orales de hasta 600 mg/día o 300 mg/2 veces al día, no presentaban apenas efectos adversos significativos y disminuía significativamente la carga viral a nivel del tracto respiratorio inferior.

Palabras clave: virus respiratorio sincitial; EDP-938; antiviral

EDP-938, a new antiviral with inhibitory activity against the nucleoprotein of the respiratory syncytial virus

ABSTRACT

The absence of an effective vaccine against respiratory syncytial virus (RSV) has led to the development of various drugs with the ability to inhibit or block its replicative activity. The first generation, called fusion inhibitors, bind to the F

protein on the viral surface and prevent the virus from binding and entering the cell. However, its low efficacy has determined the start of studies with second-generation compounds capable of binding or blocking the nucleoprotein (N); most of these compounds are analogs of 1,4-benzodiazepines. EDP-938 has shown high efficacy against RSV. The first trials in humans have shown that this antiviral is rapidly absorbed after oral administration and has a half-life of between 11-18 hours. Administration for seven days of multiple oral doses of up to 600 mg/day or 300 mg/day/twice a day, there were hardly any significant adverse effects and the viral load in the lower respiratory tract decreased significantly.

Keywords: respiratory syncytial virus; EDP-938; antiviral agent

EPIDEMIOLOGÍA

El virus respiratorio sincitial (VRS) fue descubierto en 1955, designado como *chimpanzee coryza agent* y asociado con bronquiolitis en los niños en 1957 [1,2]. Es causante de patologías respiratorias agudas (bronquiolitis y neumonías) que se presenta preferentemente de forma epidémica en los meses invernales. Aunque puede afectar a toda la población, su impacto patológico es mucho mayor en la población infantil (<5 años) y en la de mayor edad (>65 años) [3]. De este modo se calcula que es el responsable del 22% de las infecciones respiratorias agudas (IRAs) en la población infantil. En un estudio mundial de 2015 se calculó que el VRS causaba 33.1 millones de IRAs al año, determinando cerca de 3.2 millones de hospitalizaciones y unos 59.000 fallecimientos hospitalarios en menores de 5 años. Además, en los menores de 6 meses, el VRS causa alrededor de 1.4 millones de hospitalizaciones y cerca de 27.300 fallecimientos anuales [4]. En la población de mayor edad, el VRS es el responsable de cerca de 17.000 fallecimientos anuales por neumonía o sus complicaciones [5].

Correspondencia:

Jordi Reina

Unidad de Virología, Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Son Espases, Facultad de Medicina (UIB). Carretera Valldemossa 79, 07120 Palma de Mallorca

E-mail: jorge.reina@ssib.es

CARACTERÍSTICAS MOLECULARES DEL VRS

El VRS es un virus con envoltura que presenta un genoma ARN negativo de una sola cadena y no segmentado (15.200 nucleótidos) que contiene diez genes y codifica once proteínas distintas; pertenece a la familia *Pneumoviridae* y al género *Orthopneumovirus*. En la envoltura del virus se encuentran cuatro proteínas: la de la matriz (M), la pequeña proteína hidrofóbica (SH, *small hydrophobic*) y dos glicoproteínas designadas como F (fusión) y G (unión celular, *attachment glycoprotein*) (Figura 1) [6]. De las proteínas unidas al genoma viral destaca la nucleoproteína (N) que tiene una longitud de unos 489-553 aminoácidos y un peso molecular de 53-57 kDa. Se une al ARN del genoma formando la ribonucleoproteína viral facilitando el mantenimiento de su estructura helicoidal y protegiéndolo de la digestión de las nucleasas. El análisis de su estructura cristalográfica ha permitido conocer los puntos de unión con el ARN del virus y establecer las bases moleculares de su posible bloqueo químico [7]. Además, la proteína N es una de las más conservadas y esenciales para la replicación y transcripción viral y por ello, una diana muy recomendable frente a este virus [8].

MOLÉCULAS ANTIVIRALES

Desde hace tiempo se vienen estudiando diferentes moléculas con capacidad para inhibir o bloquear la actividad re-

plicadora del VRS [9]. La mayoría de ellas, denominadas como inhibidores de la fusión, se fijan a la proteína F de la superficie viral y evitan la unión y entrada del virus en la célula. El primero de los analizados en ensayos humanos fue presatovir (GS-5806); sin embargo en los ensayos fase 3 fue incapaz de alcanzar eficacia clínica y virológica suficiente [10]. Además, se observó la aparición rápida de cepas resistentes a este antiviral, sugiriendo un umbral muy bajo al desarrollo de incapacidad funcional [11]. Otros inhibidores de la fusión, tales como JNJ-53718678, ziresovir y sisunatovir, están todavía en fase de estudio clínico y no hay datos suficientes en humanos [12]. También se han descrito compuestos que bloquean la replicación viral después de su entrada en la célula, tales como el inhibidor nucleósido lumicitabine (ALS-8176) e inhibidores de la polimerasa L no nucleósidos como AZ-27, PC786 o JNJ-64417184. Sin embargo, de todos ellos sólo lumicitabine ha superado la prueba de concepto de eficacia en un solo estudio en humanos, aunque se decidió no continuar su desarrollo clínico [13].

Una nueva línea de investigación se inició con los compuestos capaces de unirse o bloquear la nucleoproteína (N) del VRS; la mayoría de estos compuestos son análogos de las 1,4-benzodiazepinas [14,15]. La primera molécula derivada de estos compuestos fue RSV-604 ((S)-1-(2-Fluorophenyl)-3-(2-oxo-5-phenyl-2,3-dihydro-1H-benzo[e][1,4]diazepin-3-yl)-urea) que presentó en los primeros estudios en animales y humanos una prometedora actividad antiviral frente al VRS, especialmente

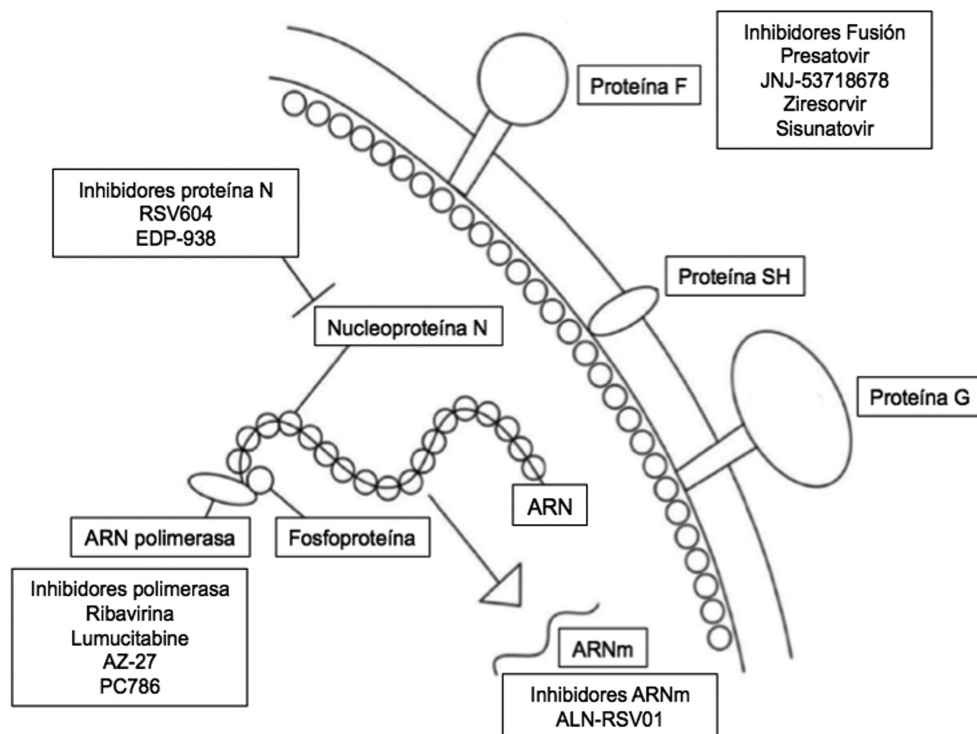


Figura 1 | Estructura esquemática del VRS y los puntos de actuación de los diferentes antivirales estudiados (adaptado de Maggon et al.) [9].

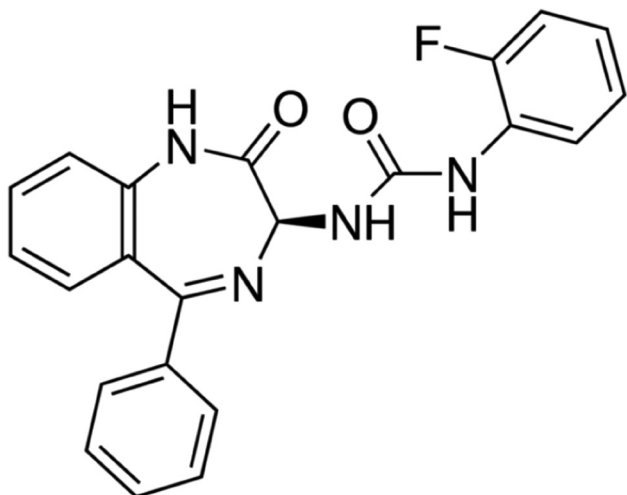


Figura 2 Estructura química de la molécula inhibidora RSV604 (fórmula $C_{22}H_{17}FN_4O_2$) precursora del EDP-938.

en los pacientes con trasplante de células madre, alcanzando en ellos una concentración máxima efectiva del 90% (EC_{90}) [16]. A pesar de ello este compuesto dejó de utilizarse debido a su potencia subóptima y a las bajas concentraciones obtenidas en pacientes no inmunodeprimidos [17]. Siguiendo la línea de las 1,4-benzodiazepinas y tras su optimización química se obtuvo un nuevo compuesto antiviral designado como EDP-938 (Figura 2) que parece actuar bloqueando la replicación viral tras su entrada en la célula (actividad citoplasmática) [12].

Los estudios realizados por Rhodin et al. [12] y Coakley et al. [18] han mostrado que EDP-938 es muy parecido, en eficacia antiviral, a otros inhibidores de la replicación viral que interactúan con la proteína N tales como RSV-604 o AZ-27 y como los que interactúan con la proteína L como ALS-8112 y PC786. Se ha estudiado la emergencia de cepas resistentes a este antiviral y se ha demostrado que en comparación con la selección de cepas resistentes al GS-5806 o AZ-27, la aparición de las mismas frente al EDP-938 es mínima y prácticamente no valorable. Las escasas cepas seleccionadas se caracterizaban por su baja capacidad replicativa y la mínima trasmisibilidad; siendo la principal mutación responsable la que aparecía en la posición M109K. Los estudios realizados en primates no humanos han mostrado en el lavado broncoalveolar y los frotis faríngeos que EDP-938 reduce la carga viral del VRS en más de $4 \log_{10}$, comparado con el grupo control [12].

Dado el carácter de proteína altamente conservada (genéticamente), se postula que EDP-938 se une directamente a la proteína N o desarrolla su actividad a través de otra molécula (desconocida) que interactúa con ella, haciendo que su actividad sea dependiente de la célula (huésped). Rhodin et al. [12] postulan que este antiviral inhibe la transcripción primaria u otro paso en las fases más precoces del ciclo replicativo viral.

Los primeros ensayos realizados en humanos han muestra-

do que este antiviral se absorbe de forma rápida tras su administración oral y presenta una vida media de entre 11-18 horas. La administración durante siete días de múltiples dosis orales de hasta 600 mg/día o 300 mg/2 veces al día, no presentaban apenas efectos adversos significativos [19].

Ahmad et al. [20] han presentado un ensayo clínico fase 2a, doble-ciego, controlado y con placebo con dos ramas. Ambos grupos fueron infectados por vía nasal con la cepa VRS-A Memphis 37b (M37b) antes de recibir EDP-938 por vía oral durante 5 días consecutivos o bien placebo. En la parte 1, 115 participantes recibieron EDP-938 (600 mg una sola vez al día o 300 mg/2 veces al día tras una dosis de carga de 500 mg) o placebo. En la parte 2, 63 pacientes recibieron EDP-938 (300 mg una vez al día tras una dosis de carga de 600 mg, o 200 mg/2 veces al día tras una dosis de carga de 400 mg) o placebo. En todos ellos se estudió el área bajo la curva (ABC) como parámetro de reducción de la carga viral.

En la parte 1, el ABC fue de 204 (\log_{10} copias/ml) en el grupo que recibió los 600 mg, 217,7 en los que recibieron 300 mg y 790 en el grupo placebo. El ABC de los pacientes con síntomas clínicos fue de 124.5 en el grupo de 600 mg, 181.8 en el de 300 mg y de 478.8 en el grupo placebo.

Los resultados obtenidos en la parte 2 fueron muy similares a los anteriores. El ABC fue de 173,9 en los de 300 mg, 196,2 en los de 200 mg y 879 en el grupo placebo. Por su parte el ABC de los síntomas fue de 99,3, 89,6 y 432,2 respectivamente. En las dos partes, la producción de moco disminuyó un 70% en cada uno de los grupos que recibieron EDP-938. El perfil de seguridad fue muy parecido al placebo. El pico máximo de concentración del EDP-938 fue a las 4-5 horas de su administración y la vida media de 13,7-14,5 horas en todos los grupos. No se ha podido establecer cual es la dosis mínima efectiva y no parece que haya una dosis-respuesta evidente en los diferentes grupos [20].

De este ensayo clínico se puede concluir que cualquiera de los grupos tratados con EDP-938 es superior al grupo placebo en la capacidad para disminuir la carga viral del VRS, disminuir la sintomatología respiratoria y la cantidad de secreción mucosa formada por la infección viral. La concentración plasmática de EDP-938 fue entre 14,5-40 veces superior al valor de la EC_{90} frente al VRS-A M37b necesaria en cultivos celulares, lo cual permite un margen de seguridad terapéutica elevado [20].

Una de las posibles debilidades de este ensayo es que la infección por VRS se induce experimentalmente y por ello se conoce el momento para el inicio precoz del tratamiento antiviral. Pero en la realidad clínica los pacientes se presentan en diferentes fases de la infección y por ello el inicio de la terapia no es inmediato [20]. Por ello la mayoría de antivirales frente a los virus respiratorios (gripe, SARS-CoV-2) deben administrarse las primeras 24-48 horas tras la aparición de los síntomas para intentar reducir al máximo la carga viral. De este modo, muy probablemente EDP-938 también deba administrarse lo antes posible, de modo que se precisen de estudios de eficacia terapéutica en condiciones reales. A pesar de ello parece ser un antiviral muy prometedor con una fácil administración oral y sin apenas efectos adversos.

FINANCIACIÓN

Los autores declaran no haber recibido financiación para la realización de este trabajo.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

BIBLIOGRAFÍA

1. Chanock R, Roizman B, Myers R. Recovery from infants with respiratory illness of a virus related to chimpanzee coryza agent (CCA). I. Isolation properties and characterization. *Am J Hyg* 1957; 66:281-90. doi:10.1093/oxfordjournals.aje.a119901.
2. Chanock R, Finberg L. Recovery from infants with respiratory illness of a virus related to chimpanzee coryza agent (CCA). II. Epidemiologic aspects of infection in infants and Young children. *Am J Hyg* 1957; 66:291-300. doi:10.1093/oxfordjournals.aje.a119902.
3. Beugeling M, De Zee J, Woerdenburg HJ, Frijlink HW, Wilschut JC, Hinrichs WL. Respiratory syncytial virus subunit vaccines base on the viral envelope glycoproteins intended for pregnant women and the elderly. *Expert Rev Vaccines* 2019; 18:935-50. doi:10.1080/14760584.2019.1657013.
4. Shi T, McAllister DA, O'Brien KL, Simoes EA, Shabir A, Shi T et al. Global, regional and national disease burden estimates of acute lower respiratory infections due to respiratory syncytial virus in Young children in 2015: a systematic review and modelling study. *Lancet* 2017; 390:946-58. doi:10.1016/S0140-6736(17)30938.
5. Falsey AR, Hennessey PA, Formica MA, Cox C, Walsh EE. Respiratory syncytial virus infection in elderly and high-risk adults. *N Engl J Med* 2005; 352:1749-59. doi.org/10.1056/NEJMoa043951.
6. Plemper RK, Lamb RA. Paramyxoviridae: the viruses and their replication. En: Howley PM, Knipe DM (eds). *Fields Virology* (Vol.1). Emerging viruses. Wolters Kluwer, Philadelphia. 2021, pp.504-558.
7. Tawar RG, Duquerry S, Vonrhein C, Varela PF, Damier-Piolle L, Castagne N et al. Crystal structure of a nucleocapsid-like nucleoprotein-RNA complex of respiratory syncytial virus. *Science* 2009; 326:1279-83. doi:10.1126/science.1177634.
8. Galloux M, Tarus B, Blazevic I, Fix J, Duquerry S, Eleouet JF. Characterization of a viral phosphoprotein binding site on the surface of the respiratory syncytial virus nucleoprotein. *J Virol* 2012; 86:8375-87. doi:10.1128/JVI.00058-12.
9. Maggon K, Barik S. New drugs and treatment for respiratory syncytial virus. *Rev Med Virol* 2004; 14:149-68. doi:10.1002/rmv.423.
10. Mackman RL, Sangi M, Sperandio D, Parrish JP, Eisenberg E, Perron M et al. Discovery of an oral respiratory syncytial virus (RSV) fusion inhibitor (GS-5806) and clinical proof of concept in a human RSV challenge study. *J Med Chem* 2015; 58:1630-43. doi:10.1021/jm5017768.
11. Porter DP, Guo Y, Perry J, Gossage DL, Watkins TR, Chien JW et al. Assessment of drug resistance during phase 2b clinical trials of presatovir in adults naturally infected with respiratory syncytial virus. *Antimicrob Agents Chemother* 2020; 64:e02312-19. doi:10.1128/AAC.02312-19.
12. Rhodin MHJ, McAllister NV, Castillo J, Noton SL, Fearn R, Kim IJ et al. EDP-938, a novel nucleoprotein inhibitor of respiratory syncytial virus, demonstrates potent antiviral activities in vitro and in a non-human primate model. *PLoS Pathog* 2021; 17:e1009428. doi:10.1371/journal.ppat.1009428.
13. DeVincenzo JP, McClure MW, Symons JA, Fathi H, Westland C, Chanda S et al. Activity of oral ALS-008176 in a respiratory syncytial virus challenge study. *N Engl J Med* 2015; 373:2048-58. doi:10.1056/NEJMoa1413275.
14. Carter MC, Alber DG, Baxter RC, Bithell SK, Budworth J, Chubb A et al. 1,4-benzodiazepines as inhibitors of respiratory syncytial virus. *J Med Chem* 2006; 49:2311-9. doi:10.1021/jm051185t.
15. Henderson EA, Alber DG, Baxter RC, Bithell SK, Budworth MC, Carter MC. 1,4-benzodiazepines as inhibitors of respiratory syncytial virus. The identification of a clinical candidate. *J Med Chem* 2007; 50:1685-92. doi:10.1021/jm0607471.
16. Marty FM, Chemaly RF, Mullane KM, Lee DG, Hirsch HH, Small CB et al. A phase 2b, randomized, double-blind, placebo-controlled multicenter study evaluating antiviral effects, pharmacokinetics, safety and tolerability of presatovir in hematopoietic cell transplant recipients with respiratory syncytial virus infection of the lower respiratory tract. *Clin Infect Dis* 2020; 71:2787-95. doi:10.1093/cid/ciz1167.
17. Chapman J, Abbott E, Alber DG, Baxter RC, Bithell SK, Henderson EA et al. RSV604. A novel inhibitor of Respiratory Syncytial Virus replication. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51:3346-53. doi:10.1128/AAC.00211-07.
18. Coakley E, Ahmad A, Larson K, McClure T, Lin K, Lin K et al. EDP-938, a novel RSV N-inhibitor, administered once or twice a daily was safe and demonstrated robust antiviral and clinical efficacy in a healthy volunteer challenge study. *Open Forum Infect Dis* 2019; 6:S995. doi:10.1093/ofid/ofz415.2489.
19. Adda N, Dickerson D, Sanderson K, Ahmad A. EDP-938, a novel, non-fusion replication inhibitor of respiratory syncytial virus: preliminary results of a phase 1 study in healthy subjects. 11th International Respiratory Syncytial Virus Symposium, Asheville NC (USA). October 31-november 4, 2018, p104.
20. Ahmad A, Eze K, Noulin N, Horvathova V, Murray B, Baillet M et al. EDP-938, a Respiratory Syncytial Virus inhibitor, in a human virus challenge. *N Engl J Med* 2022; 386:655-66. doi:10.1056/NEJMoa2108903.