



Since January 2020 Elsevier has created a COVID-19 resource centre with free information in English and Mandarin on the novel coronavirus COVID-19. The COVID-19 resource centre is hosted on Elsevier Connect, the company's public news and information website.

Elsevier hereby grants permission to make all its COVID-19-related research that is available on the COVID-19 resource centre - including this research content - immediately available in PubMed Central and other publicly funded repositories, such as the WHO COVID database with rights for unrestricted research re-use and analyses in any form or by any means with acknowledgement of the original source. These permissions are granted for free by Elsevier for as long as the COVID-19 resource centre remains active.

Revisión

Tratamiento antigripal: fármacos actualmente utilizados y nuevos agentes en desarrollo



Luciano Amarelle^{a,b}, Emilia Lecuona^a y Jacob I. Sznajder^{a,*}

^a Division of Pulmonary and Critical Care, Feinberg School of Medicine, Northwestern University, Chicago, Illinois, Estados Unidos de América

^b Departamento de Fisiopatología, Hospital de Clínicas, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 2 de mayo de 2016

Aceptado el 10 de julio de 2016

On-line el 9 de agosto de 2016

Palabras clave:

Gripe
Virus influenza
Tratamiento
Fármacos

Keywords:

Influenza
Influenza virus
Treatment
Drugs

R E S U M E N

La gripe es una enfermedad contagiosa altamente prevalente y con significativa morbimortalidad. El tratamiento disponible con fármacos antivirales, de ser administrado de forma precoz, puede reducir el riesgo de complicaciones severas; sin embargo, muchos tipos de virus desarrollan resistencia a estos fármacos, reduciendo notablemente su efectividad. Ha habido un gran interés en el desarrollo de nuevas opciones terapéuticas para combatir la enfermedad. Una gran variedad de fármacos han demostrado tener actividad antiinfluenza, pero aún no están disponibles para su uso en la clínica. Muchos de ellos tienen como objetivo componentes del virus, mientras que otros son dirigidos a elementos de la célula huésped que participan en el ciclo viral. Modular los componentes del huésped es una estrategia que minimiza el desarrollo de cepas resistentes, dado que estos no están sujetos a la variabilidad genética que tiene el virus. Por otro lado, la principal desventaja es que existe un mayor riesgo de efectos secundarios asociados al tratamiento. El objetivo de la presente revisión es describir los principales agentes farmacológicos disponibles en la actualidad, así como los nuevos fármacos en estudio con potencial beneficio en el tratamiento de la gripe.

© 2016 SEPAR. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

Anti-Influenza Treatment: Drugs Currently Used and Under Development

A B S T R A C T

Influenza is a very common contagious disease that carries significant morbidity and mortality. Treatment with antiviral drugs is available, which if administered early, can reduce the risk of severe complications. However, many virus types develop resistance to those drugs, leading to a notable loss of efficacy. There has been great interest in the development of new drugs to combat this disease. A wide range of drugs has shown anti-influenza activity, but they are not yet available for use in the clinic. Many of these target viral components, which others are aimed at elements in the host cell which participate in the viral cycle. Modulating host components is a strategy which minimizes the development of resistance, since host components are not subject to the genetic variability of the virus. The main disadvantage is the risk of treatment-related side effects. The aim of this review is to describe the main pharmacological agents currently available and new drugs in the pipeline with potential benefit in the treatment of influenza.

© 2016 SEPAR. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Introducción

La gripe es una enfermedad infecciosa generada por distintos tipos de virus influenza, caracterizada por un cuadro respiratorio

agudo, altamente contagioso. Si bien suele presentarse como formas leves con resolución en 3 a 7 días, también puede predisponer a contraer infecciones secundarias o presentarse en formas severas como neumonía o síndrome de distrés respiratorio agudo, siendo en ocasiones fatal, sobre todo en pacientes de edad avanzada¹⁻⁴. La gripe estacional afecta al 5-10% de la población mundial cada año, resulta en ~3 a 5 millones de casos severos y entre 250.000 y 500.000 muertes. Se puede presentar en forma de brotes

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: j-sznajder@northwestern.edu (J.I. Sznajder).

Tabla 1
Fármacos antigripales

	Fármacos actualmente utilizados
<i>Inhibidores del canal iónico M2</i>	<i>Inhibidores de la neuraminidasa</i>
Amantadina	Oseltamivir
Rimantadina	Zanamivir
	Peramivir
	Laninamivir
	Otros grupos farmacológicos
<i>Fármacos activos ante componentes del virus</i>	<i>Fármacos activos ante componentes del huésped</i>
<i>Inhibidores de la unión y de la fusión</i>	<i>Inhibidores de la unión</i>
MBX2329	DAS181 (Fludase®)
Arbidol	Aprotinina
Anticuerpos: CH65, D1-8, HB36.6	
<i>Inhibidores de la polimerasa viral</i>	<i>Inhibidores de endocitosis y fusión</i>
Favipiravir (T-705)	Glicirrizina
VX-787	LJ001
	Bafilomicina A1
	Concanamicina A
	Salifenilalamida
<i>Inhibidores de la nucleoproteína</i>	<i>Inhibidores de la transcripción y transporte del ARN viral</i>
Nucleozina	Geldanamicina
Naproxeno	17-AAG
	Ribavirina
	Viramidina
<i>Inhibidores de la proteína NS1</i>	<i>Inhibidores de la exportación del complejo ribonucleoproteico viral y de procesos postranscripcionales</i>
NSC125044	Verdinexor
JJ3297	Nitazoxanida
Baicalina	<i>Inhibidores de vías de defensa intracelulares</i>
	U0126
	PD-0325901
	AZD-6244
	AZD-8330
	RDEA-119
	Ácido acetil salicílico
	Otros agentes con actividad antiinfluenza
	Ouabaína

pandémicos, con alta mortalidad y gran impacto sobre la salud pública⁵.

La vacunación es fundamental en la prevención de la enfermedad y sus complicaciones, principalmente para grupos de riesgo como niños, ancianos, portadores de enfermedades respiratorias crónicas y embarazadas. El tratamiento disponible con fármacos antivirales, de ser administrado de forma precoz, puede reducir el riesgo de complicaciones severas; sin embargo, muchos tipos de virus desarrollan resistencia a fármacos, reduciendo su efectividad, por lo que ha habido un gran interés en los últimos años en el desarrollo de nuevas opciones terapéuticas para combatir la enfermedad. La presente revisión describe los principales agentes farmacológicos disponibles en la actualidad y analiza nuevos medicamentos en estudio con potencial beneficio en el tratamiento de la gripe⁵⁻⁷ (tabla 1).

Estructura y características generales del virus de la gripe

Los virus de la gripe pertenecen a la familia *Orthomyxoviridae* y son clasificados como A, B o C. Los virus influenza A circulan en diversas especies como humanos, equinos, porcinos y aves, mientras que los de tipo B afectan solo a humanos. El cuadro gripal causado por los tipos A y B es indistinguible; por el contrario, la C causa síntomas respiratorios leves⁸⁻¹⁰.

La estructura del virus influenza A consta de una envoltura lipídica que proviene de la célula huésped y lleva ancladas las glucoproteínas hemaglutinina (HA) y neuraminidasa (NA), antígenos de superficie usados para clasificar a los virus (por ejemplo, H1N1, H3N2, H5N1). En la membrana se encuentran también las proteínas de matriz M2 y M1, mientras que en el centro de la partícula viral se halla el complejo ribonucleoproteico (segmentos de ARN viral y las

proteínas polimerasa básica 1, polimerasa básica 2 [PB2] y polimerasa ácida [PA]), la nucleoproteína (NP), la proteína de exportación nuclear y la proteína no estructural 2. El genoma es de ARN de cadena simple y segmentado en 8 partes, que dan origen a entre 8 y 12 proteínas del virus¹¹⁻¹⁶.

El ciclo viral

El anclaje a la célula huésped se da a través de la unión de la HA del virus con el ácido siálico de las glucoproteínas o glucolípidos de la membrana celular¹⁷. Las especies de influenza que afectan a humanos reconocen preferentemente el ácido siálico unido a galactosa por una unión $\alpha 2,6$ (SA $\alpha 2,6$ Gal), que abunda en las células epiteliales del tracto respiratorio^{18,19}. Una vez el virus se une al receptor de membrana, ingresa a la célula huésped por endocitosis y se libera en el citoplasma celular fusionando su membrana con la del endosoma. La HA viral es clave en este paso, ya que al ser escindida por proteasas del huésped^{20,21} expone una región conocida como «péptido de fusión» que interactúa con la membrana del endosoma y determina la fusión de las membranas liberando el contenido del virión al citoplasma celular²²⁻²⁴. Un paso importante para este proceso es la acidificación del endosoma que ocurre a través de un canal iónico formado por la proteína viral M2. Por este canal ingresan protones y favorecen la separación de la proteína de matriz M1 y el complejo ribonucleoproteico del virus, que es así liberado al citoplasma para su posterior importación nuclear²⁵⁻²⁷. Una vez en el núcleo, el ARN viral es transcrito a ARN mensajero (ARNm), que es poliadenilado, hecho fundamental para la expresión de las proteínas virales²⁸. La traducción de las proteínas virales es llevada a cabo por la maquinaria de la célula huésped, y una vez sintetizadas las proteínas PA, PB y NP son importadas al núcleo para

facilitar la transcripción y replicación del ARN viral. Los complejos de ribonucleoproteína son luego exportados del núcleo, para lo cual son fundamentales la proteína no estructural 2, la proteína de exportación nuclear y la M1. Las proteínas virales HA, NA y M2 son glucosiladas en el retículo endoplásmico y transportadas a través de la red Golgi hasta la membrana celular²⁹. Las ribonucleoproteínas y los 8 segmentos virales una vez transportados a la membrana celular son empaquetados para generar los nuevos brotes virales. Varias proteínas estructurales del virus, como HA, NA y M2, contribuyen al proceso de brote por su interacción con la membrana lipídica celular²⁹. El proceso finaliza cuando las membranas se fusionan en la base del brote y el virus se escinde mediante la acción de la NA, que cataliza la remoción del ácido siálico de las glicoproteínas de superficie³⁰.

Terapéutica

Fármacos actualmente utilizados

De los 5 fármacos antiinfluenza actualmente disponibles, solo 3 son recomendados por la *Food and Drug Administration* de los Estados Unidos para esta temporada: oseltamivir (Tamiflu®) vía oral, zanamivir (Relenza®) vía inhalatoria y peramivir (Rapivab®) vía intravenosa, todos inhibidores de la NA³¹. Los inhibidores del canal iónico M2, amantadina y rimantidina, no están recomendados dado que los virus circulantes poseen una gran tasa de resistencia a estas y que no poseen efecto en los virus influenza tipo B ni C³².

Inhibidores del canal iónico M2

Los derivados del adamantano, como amantadina y rimantidina, son fármacos con conocido efecto antiinfluenza A y han sido la primera opción para el tratamiento de la gripe durante muchos años. Su acción consiste en la unión a un bolsillo específico de la proteína viral M2, estabilizando su conformación cerrada e impidiendo que después de la fusión, el virus pueda liberar el complejo ribonucleoproteico al citoplasma para seguir adelante con el ciclo viral³³. También se ha demostrado que la amantadina puede afectar el pH de las vesículas que transportan las glicoproteínas virales, interfiriendo así con el proceso de ensamblaje³⁴.

A causa de la resistencia viral a estos fármacos se han desarrollado nuevos compuestos estructuralmente relacionados, como los azoladamantanos^{35,36}. Sin embargo, no hay fármacos de este grupo con actividad probada contra todos los virus circulantes resistentes a amantadina.

Inhibidores de la neuraminidasa

Poseen actividad contra influenza A y B; oseltamivir y zanamivir son los más antiguos, y los de las nuevas generaciones son peramivir y laninamivir. Estos fármacos impiden la escisión del ácido siálico inhibiendo la liberación del virión, evitando que las nuevas partículas virales se diseminen a otras células³⁷. La resistencia global a los inhibidores de la NA es menos del 2% de los virus circulantes en 2013-2014; sin embargo, se han identificado virus en comunidades localizadas (Japón, China, Australia) que poseen alta resistencia a estos fármacos³⁸. Es prometedor el desarrollo de nuevas moléculas inhibitorias de la NA, con actividad frente a cepas resistentes a los fármacos actualmente disponibles³⁹⁻⁴².

En la práctica clínica los inhibidores de la NA son los únicos anti-gripales actualmente recomendados; entre ellos, oseltamivir es el más utilizado, dada su buena biodisponibilidad para uso oral. Sin embargo, existe un intenso debate sobre la interpretación de los estudios clínicos que avalan su eficacia. Un metaanálisis realizado por el grupo Cochrane en 2014 evidenció un modesto beneficio del tratamiento con oseltamivir en casos de gripe leve, con una reducción de la duración de los síntomas de 7 a 6,3 días en adultos y una

reducción de los síntomas en niños sanos; sin embargo, no mostró beneficio en niños asmáticos. La tasa de hospitalización de los pacientes con oseltamivir fue similar a la de los no tratados⁴³. De un metaanálisis publicado en *Lancet* en 2015 surge que para los casos leves de infección por influenza confirmada, el tratamiento con oseltamivir disminuye el tiempo de síntomas, las infecciones respiratorias bajas y las admisiones hospitalarias. En ambos estudios se reportan las náuseas y los vómitos como principales efectos secundarios⁴⁴. En cuanto a las presentaciones severas de la gripe, si bien no existen trabajos clínicos aleatorizados, estudios observacionales indican un beneficio del uso de oseltamivir con una reducción significativa de la tasa de mortalidad para casos graves⁴⁵⁻⁴⁷. Las guías de práctica clínica recomiendan el inicio precoz de antivirales para el tratamiento de casos graves de influenza confirmada que requieren hospitalización o en pacientes con riesgo de complicaciones severas, como menores de 2 o mayores de 65 años, portadores de enfermedad pulmonar crónica, inmunosuprimidos, obesos mórbidos, mujeres embarazadas o puérperas de menos de 2 semanas. La quimioprofilaxis posexposición se puede considerar en personas con alto riesgo de complicaciones o no inmunizados, y siempre iniciarla en las primeras 48 h posexposición. El fármaco de primera línea es oseltamivir, mientras que el uso de zanamivir inhalatorio, nebulizado o intravenoso está indicado en caso de cepas resistentes a oseltamivir o mala absorción intestinal. La dosis indicada de oseltamivir es de 75 mg 2 veces por día para tratamiento y una vez por día para quimioprofilaxis, y para zanamivir inhalatorio, de 10 mg 2 veces por día para tratamiento y una vez por día para quimioprofilaxis; este último no está recomendado en casos de asma o EPOC. La duración del tratamiento debe ser de 5 días, pudiendo prolongarse en casos graves, mientras que para la profilaxis se recomienda 10 días tanto para oseltamivir como para zanamivir^{32,48,49}.

Otros grupos farmacológicos

Existe una considerable cantidad de fármacos que han sido ensayados por su potencial antiviral, pero aún no están disponibles para su uso en la clínica. Describiremos los grupos más importantes.

Fármacos activos ante componentes del virus

Inhibidores de la unión y la fusión viral. *Ligandos sintéticos de la HA viral:* este grupo comprende una variedad de moléculas capaces de ser reconocidas por la HA viral, interfiriendo así en la interacción virus-célula. Ejemplos de ello son MBX2329 (un amino éster de fenil alquilo) y MBX2546 (una sulfonamida), que inhiben la entrada del virus influenza A mediante su unión al tallo de la HA, interfiriendo con la fusión viral⁵⁰. También se han estudiado péptidos sintéticos análogos al ácido siálico que son reconocidas por la HA viral e inhiben su acción⁵¹, y antagonistas del péptido de fusión que interrumpen el cambio conformacional de HA necesario para la correcta fusión del virus a la célula⁵².

Arbidol: fármaco sintético actualmente aprobado para el tratamiento de la gripe en Rusia y China, pero no en EE. UU. dada la insuficiente evidencia clínica⁴⁹. Se trata de una molécula hidrofóbica que penetra la membrana lipídica de virus encapsulados e interacciona con los fosfolípidos de membrana y proteínas transmembrana ricas en residuos aromáticos de la envoltura viral, interfiriendo con los procesos de entrada y fusión a la célula huésped^{53,54}. Un estudio clínico multicéntrico aleatorizado (ARBITR) mostró en pacientes con influenza tratados con arbidol, un acortamiento de la enfermedad con reducción de la severidad y de la emisión de virus⁵⁵.

Se han identificado cepas de influenza resistentes a arbidol por mutaciones en la subunidad HA2, permitiendo que el virus prosiga con el proceso de fusión a la membrana del endosoma⁵⁶. La síntesis de compuestos estructuralmente relacionados abre una puerta a nuevos antivirales, tal es el caso de indoles sintéticos que en

estudios *in vitro* presentan mayor potencia antiviral que arbidol sobre ciertos subtipos de influenza A⁵⁷.

Anticuerpos anti-HA: se han desarrollado anticuerpos monoclonales contra sitios altamente conservados de HA, capaces de neutralizar cepas de virus influenza. Como ejemplo, el anticuerpo CH65, descrito a partir de la muestra de un paciente con vacuna antiinfluenza en 2007, ha demostrado ser eficaz *in vitro* contra un amplio espectro de cepas de influenza H1N1, gracias a su unión en el bolsillo de unión de la subunidad HA1⁵⁸. El anticuerpo D1-8 ha mostrado eficacia para neutralizar diferentes cepas de virus influenza H3N2 *in vitro* e *in vivo*, logrando en ratones una mayor supervivencia comparado con el tratamiento con oseltamivir⁵⁹. También los anticuerpos dirigidos contra el tallo de la proteína HA pueden ser eficaces contra el virus influenza. El HB36.6 ha mostrado eficacia contra diferentes cepas de H1N1 y H5N1 *in vitro*, mientras que en ratones demostró reducir la replicación viral y mejorar la supervivencia⁶⁰.

Inhibidores de la polimerasa viral. La polimerasa viral es una proteína altamente conservada entre las distintas cepas de influenza, siendo un objetivo terapéutico de interés.

Favipiravir (T-705): es una molécula capaz de convertirse dentro de la célula en un análogo nucleósido, el ribonucleótido T-705-4-ribofuranosil-5'-monofosfato, que inhibe la actividad de la ARN polimerasa viral sin afectar la síntesis celular de ARN ni ADN⁶¹. Se ha demostrado su eficacia frente a distintas cepas de influenza⁶²⁻⁶⁴.

Inhibidores de PB2: para la traducción del ARNm viral se requiere un iniciador 5'cap, que el virus «roba» del pre-ARNm del huésped. En este proceso es esencial la unión de la subunidad PB2 a la caperuza 5' del pre-ARNm del huésped y la subsecuente escisión del extremo 5' por la proteína PA con actividad endonucleasa^{65,66}. Los fármacos en estudio que interfieren con este proceso tienen un gran potencial como antivirales⁶⁷. Tal es el caso de VX-787, que ha demostrado actividad *in vivo* contra diversas clases de influenza A, siendo eficaz tanto en profilaxis como en tratamiento^{68,69}.

Inhibidores de la nucleoproteína. La nucleoproteína se une al ARN viral y forma parte del complejo ribonucleoproteico. Es fundamental para la síntesis del ARN viral y también participa en la exportación nuclear de las ribonucleoproteínas virales y en el tráfico citoplasmático⁷⁰.

Nucleozina: es el fármaco más estudiado de este grupo. Se ha demostrado que posee actividad antiviral en diferentes tiempos del ciclo del virus: en fases tempranas inhibe la transcripción de ARN viral y la síntesis proteica, y en fases tardías bloquea el tráfico citoplasmático de las nuevas ribonucleoproteínas⁷¹. Recientemente se han desarrollado análogos a la nucleozina con potencia antiviral ante diferentes especies de influenza A⁷².

Naproxeno: es un inhibidor de la ciclooxigenasa 2 cuya actividad antiinfluenza ha sido identificada recientemente. Se ha evidenciado que forma complejos con la NP e inhibe competitivamente la unión de NP al ARN. Tiene potencia *in vitro* e *in vivo* contra virus influenza A⁷³. También se han sintetizado derivados de naproxeno con potencial efecto antiviral, que están en estudio⁷⁴.

Inhibidores de la proteína NS1. NS1 es una proteína multifuncional que se une al ARNm y regula pasos posteriores a la transcripción: se une al ARN de cadena doble bloqueando la inhibición de la transcripción por parte de la cinasa PKR^{75,76} e inhibe la exportación nuclear de ARNm poliadenilado del huésped⁷⁷⁻⁷⁹. Además, NS1 protege al virus de la defensa celular antiviral inhibiendo la respuesta mediada por interferón⁸⁰⁻⁸². Se han desarrollado distintos fármacos que inhiben la actividad de NS1⁸³. Por ejemplo, NSC125044 y sus derivados⁸⁴, entre ellos el compuesto JJ3297, afectan la replicación del virus *in vitro* restableciendo el efecto antiviral del interferón⁸⁵. La baicalina ha demostrado actividad

antiinfluenza *in vitro* e *in vivo*, ejerciendo su efecto mediante la alteración del dominio de unión de la proteína NS1⁸⁶.

Fármacos activos ante componentes del huésped

El conocimiento de las funciones celulares necesarias para el ciclo viral ha permitido identificar objetivos terapéuticos para el diseño de fármacos antivirales. Modular la respuesta del huésped es una estrategia que minimiza el desarrollo de cepas resistentes, dado que estos no están sujetos a la variabilidad genética que tiene el virus. Por otro lado, el riesgo de efectos secundarios asociados al tratamiento es una desventaja. Investigaciones sobre la interacción entre proteínas virales y del huésped describieron una extensa red con más de 130 interacciones entre 10 proteínas virales y 87 proteínas humanas⁸⁷. Análisis más recientes identificaron 91 factores del huésped cuya inhibición previene la replicación viral *in vitro*⁸⁸. Del análisis informático de base de datos de fármacos surgen cientos de moléculas que interactúan con factores del huésped esenciales para la replicación viral; la mayoría de estas son fármacos actualmente utilizados con otros fines terapéuticos⁸⁹.

Anclaje y fusión viral. **DAS181 (Fludase®):** es una proteína desarrollada fusionando el dominio catalítico de NA con una secuencia de anclaje a la superficie de las células del epitelio respiratorio, cuya función es escindir los residuos de ácido siálico de la superficie celular, evitando así la entrada del virus a la célula. Ha demostrado actividad antiinfluenza A y B en experimentos con animales; sin embargo, estudios clínicos no han mostrado eficacia en la mejoría de los síntomas de la gripe^{90,91}.

Aprotinina: es un polipéptido que inhibe las proteasas del huésped que escinden la HA viral. Interfiere así con el proceso de unión y fusión del virus a la célula, teniendo actividad antiinfluenza *in vitro* e *in vivo*^{92,93}. Últimamente se han desarrollado otros compuestos sintéticos, inhibidores de las serín proteasas del epitelio respiratorio con eficacia *in vitro* antiinfluenza⁹⁴.

Endocitosis y fusión. **Glicirrizina:** es un compuesto que ha mostrado actividad antiinfluenza A al alterar la estabilidad de la membrana lipídica de la célula huésped, impidiendo el proceso de endocitosis de virus encapsulados⁹⁵⁻⁹⁷.

LJ001: es una molécula de similar mecanismo de acción que glicirrizina y afecta el proceso de fusión del virus con la célula. Posee efecto antiviral de amplio espectro contra virus encapsulados, incluyendo influenza A⁹⁸.

Bafilomicina A1 y concanamicina A: antibióticos macrólidos que inhiben la acción de la H⁺ ATPasa vacuolar que bombea protones desde el citoplasma celular al interior del endosoma^{99,100}. Más recientemente se ha estudiado la *salifenilhalamida*, otro inhibidor de la H⁺ ATPasa vacuolar, mostrando eficacia antiviral¹⁰¹.

Brote y salida del virus. La enzima farnesil difosfato sintasa, que participa en la síntesis de compuestos lipídicos de la membrana plasmática, es inhibida por la proteína viperina, cuya expresión es inducida por interferón. Se ha demostrado que dicha inhibición altera la composición de la membrana plasmática celular, interfiriendo con el ensamblaje y brote de las partículas virales. La enzima farnesil difosfato sintasa ha sido propuesta como potencial objetivo para el desarrollo de fármacos con actividad antiviral¹⁰².

Transcripción y transporte del ARN viral. La proteína chaperona Hsp90 participa en la importación nuclear del ARN viral y en el ensamblaje de la polimerasa del virus, y se ha demostrado que se une a la proteína PB2, transportándose al núcleo junto con ella y modulando la interacción entre proteína polimerasa básica 1 y PA¹⁰³. Inhibidores de Hsp90 como geldanamicina y su derivado sintético 17-AAG han demostrado actividad contra virus influenza en cultivos celulares¹⁰⁴.

Ribavirina y su precursor **viramidina**: son antivirales de amplio espectro. Ribavirina (Virazole®), usada en el tratamiento del virus de la hepatitis C, es un análogo del nucleótido guanosina y su principal mecanismo de acción es la inhibición competitiva de la enzima inosina 52 monofosfatasa deshidrogenasa de la célula huésped, afectando la biosíntesis de GTP y, por lo tanto, la síntesis del ARN viral y la producción de proteínas virales¹⁰⁵. A pesar de haber obtenido resultados positivos en animales¹⁰⁶, los estudios clínicos no han demostrado eficacia que avale su uso^{107,108}.

Exportación del complejo ribonucleoproteico viral y procesos post-transcripcionales. **Verdinexor (KPT-335)**: es una molécula que inhibe la proteína exportina 1 necesaria para la salida del complejo ribonucleoproteico del virus del núcleo al citoplasma. Se ha demostrado que posee actividad antiviral frente a diferentes cepas de influenza¹⁰⁹.

Nitazoxanida: es un fármaco antiparasitario con actividad ante diferentes cepas de virus influenza A, ya que inhibe la maduración de la HA viral¹¹⁰. Un estudio clínico aleatorizado demostró una reducción de los síntomas en pacientes con infección por influenza no complicada¹¹¹.

Vías de defensa intracelulares. La vía **Raf/MEK/ERK** pertenece a la familia de las **mitogen activated protein kinases –MAPK–** y es activada por los virus influenza. Su bloqueo inhibe la exportación nuclear de ribonucleoproteínas por su interacción con la proteína viral de exportación nuclear^{112,113}. Experimentos *in vivo* muestran que la administración del compuesto U0126, un inhibidor de MEK, reduce la carga viral en tejido pulmonar y mejora la supervivencia de ratones infectados con influenza¹¹⁴. La asociación de inhibidores de MEK con oseltamivir aumenta la eficacia antiviral *in vitro* de este último¹¹⁵.

La **vía del factor de transcripción NF-κB** regula la expresión de citocinas antivirales cuya activación ha sido asociada con un incremento en la replicación de virus influenza^{116,117}. El ácido acético que inhibe la IKK2, cinasa activadora de IκB, tiene efecto antiviral, alterando la exportación nuclear de ribonucleoproteínas virales¹¹⁸. La modulación de esta vía es promisoria para el desarrollo de nuevas terapias.

Otros agentes con potencial actividad antiinfluenza. Gran variedad de fármacos utilizados para otras enfermedades han sido identificados como inhibidores de la replicación del virus influenza mediante ensayos *in vitro*. Por ejemplo, se ha demostrado que los inhibidores de la Na,K-ATPasa poseen actividad antiviral frente a distintos tipos de virus ADN y ARN. Los glucósidos cardiotónicos, inhibidores específicos de la Na,K-ATPasa, tienen una potente actividad *in vitro* ante citomegalovirus y otros herpes virus; particularmente la ouabaína ha demostrado inhibir la síntesis de proteínas virales^{119,120}. El virus del ebola también puede ser inhibido *in vitro* por la ouabaína¹²¹; en los coronavirus el principal mecanismo inhibitorio de la ouabaína está dado por la activación de la vía de señalización intracelular de la cinasa Src y la inhibición del proceso de fusión¹²². Los reovirus también son susceptibles a la acción de la ouabaína por alteración de la fusión viral¹²³. La digoxina, otro inhibidor de la Na,K-ATPasa, es activo *in vitro* frente al vaccinia virus¹²⁴. Recientemente se ha encontrado que diferentes miembros de la familia de glucósidos cardiotónicos inhiben la replicación del virus de influenza A *in vitro*^{125,126}.

En resumen, el tratamiento antigripal continúa siendo un desafío. Los fármacos actualmente utilizados son dirigidos a componentes virales y, por tanto, su eficacia puede verse afectada por los cambios genéticos propios del virus influenza. En los últimos años se han estudiado y desarrollado gran cantidad de fármacos dirigidos a modular la respuesta celular del huésped. Dado que

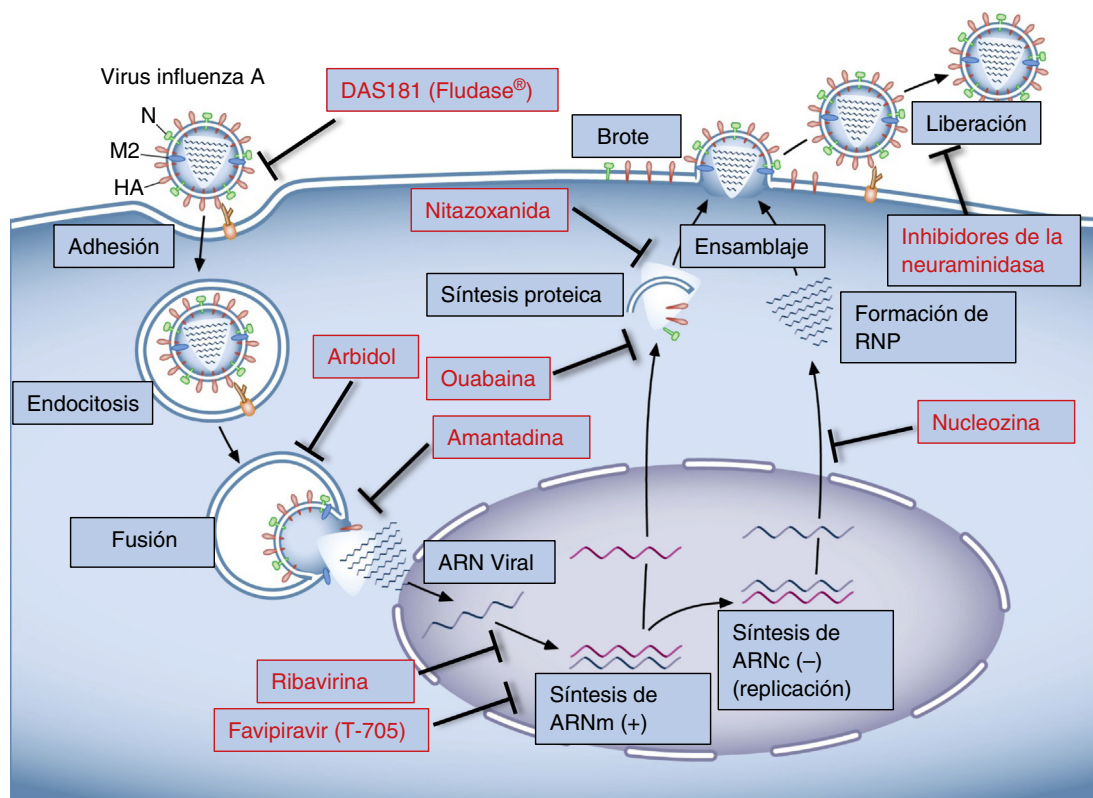


Figura 1. Esquema representativo del ciclo del virus influenza A y sus sitios de acción para los antivirales actualmente utilizados y en estudio.

tienen efecto ante distintas cepas del virus y minimizan la emergencia de especies resistentes, son promisorios como nuevos agentes para la terapia antiviral (fig. 1).

Financiación

Este artículo fue financiado en parte por subsidios de los *National Institutes of Health*, HL-48129 y HL-71643.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

- Cox NJ, Subbarao K. Influenza. *Lancet*. 1999;354:1277–82.
- Van Elden LJ, van Essen GA, Boucher CA, van Loon AM, Nijhuis M, Schipper P, et al. Clinical diagnosis of influenza virus infection: Evaluation of diagnostic tools in general practice. *Br J Gen Pract*. 2001;51:630–4.
- Cao B, Li XW, Mao Y, Wang J, Lu HZ, Chen YS, et al. Clinical features of the initial cases of 2009 pandemic influenza A (H1N1) virus infection in China. *N Engl J Med*. 2009;361:2507–17.
- Jain S, Kamimoto L, Bramley AM, Schmitz AM, Benoit SR, Louie J, et al. Hospitalized patients with 2009 H1N1 influenza in the United States, april–june 2009. *N Engl J Med*. 2009;361:1935–44.
- World Health Organization. Influenza (seasonal). Fact sheet No 211, March 2014. Disponible en: www.who.int/mediacentre/factsheets/fs211/en/.
- Li TC, Chan MC, Lee N. Clinical implications of antiviral resistance in influenza. *Viruses*. 2015;7:4929–44.
- Fiore AE, Fry A, Shay D, Gubareva L, Bresse JS, Uyeki TM, Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Antiviral agents for the treatment and chemoprophylaxis of influenza – Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recomm Rep*. 2011;60:1–24. Disponible en: www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr6001a1.htm
- Mosnier A, Caini S, Daviaud I, Nauléau E, Bui TT, Debost E, et al. Clinical characteristics are similar across type A and B influenza virus infections. *PLoS One*. 2015;10:e0136186.
- Joosting AC, Head B, Bynoe ML, Tyrrell DA. Production of common colds in human volunteers by influenza C virus. *Br Med J*. 1968;4:153–4.
- Kaupilla J, Ronkko E, Juvonen R, Saukkoriipi A, Saikku P, Blougu A, et al. Influenza C virus infection in military recruits—Symptoms and clinical manifestation. *J Med Virol*. 2014;86:879–85.
- Inglis SC, Carroll AR, Lamb RA, Mahy BW. Polypeptides specified by the influenza virus genome: I. Evidence for eight distinct gene products specified by fowl plague virus. *Virology*. 1976;74:489–503.
- Compans RW, Klenk HD, Caligiuri LA, Choppin PW. Influenza virus proteins. I. Analysis of polypeptides of the virion and identification of spike glycoproteins. *Virology*. 1970;42:880–9.
- Skehel JJ, Schild GC. The polypeptide composition of influenza A viruses. *Virology*. 1971;44:396–408.
- Hutchinson EC, Charles PD, Hester SS, Thomas B, Trudgian D, Martínez-Alonso M, et al. Conserved and host-specific features of influenza virion architecture. *Nat Commun*. 2014;5:4816.
- McGeoch D, Fellner P, Newton C. Influenza virus genome consists of eight distinct RNA species. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1976;73:3045–9.
- Shaw ML, Palese P. Orthomyxoviridae. En: Knipe DM, Howley PM, editors. *Fields Virology*, 1. Philadelphia, PA: Lippincott Williams and Wilkins; 2013.
- Weis W, Brown JH, Cusack S, Paulson JC, Skehel JJ, Wiley DC. Structure of the influenza virus haemagglutinin complexed with its receptor, sialic acid. *Nature*. 1988;333:426–31.
- Couceiro JN, Paulson JC, Baum LG. Influenza virus strains selectively recognize sialyloligosaccharides on human respiratory epithelium; the role of the host cell in selection of hemagglutinin receptor specificity. *Virus Res*. 1993;29:155–65.
- Nicholls JM, Bourne AJ, Chen H, Guan Y, Peiris JS. Sialic acid receptor detection in the human respiratory tract: Evidence for widespread distribution of potential binding sites for human and avian influenza viruses. *Respir Res*. 2007;8:73.
- Böttcher E, Matrosovich T, Beyerle M, Klenk HD, Garten W, Matrosovich M. Proteolytic activation of influenza viruses by serine proteases TMPrSS2 and HAT from human airway epithelium. *J Virol*. 2006;80:9896–8.
- Hatesuer B, Bertram S, Mehnert N, Bahgat MM, Nelson PS, Pöhlmann S, et al. Tmprss2 is essential for influenza H1N1 virus pathogenesis in mice. *PLoS Pathog*. 2013;9:e1003774.
- Skehel JJ, Bayley PM, Brown EB, Martin SR, Waterfield MD, White JM, et al. Changes in the conformation of influenza virus hemagglutinin at the pH optimum of virus-mediated membrane fusion. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1982;79:968–72.
- White J, Kartenbeck J, Helenius A. Membrane fusion activity of influenza virus. *EMBO J*. 1982;1:217–22.
- White J, Matlin K, Helenius A. Cell fusion by Semliki Forest, influenza, and vesicular stomatitis viruses. *J Cell Biol*. 1981;89:674–9.
- Bui M, Whittaker G, Helenius A. Effect of M1 protein and low pH on nuclear transport of influenza virus ribonucleoproteins. *J Virol*. 1996;70:8391–401.
- Okada A, Miura T, Takeuchi H. Zinc- and pH-dependent conformational transition in a putative interdomain linker region of the influenza virus matrix protein M1. *Biochemistry*. 2003;42:1978–84.
- Stauffer S, Feng Y, Nebioglu F, Heilig R, Picotti P, Helenius A. Stepwise priming by acidic pH and a high K⁺ concentration is required for efficient uncoating of influenza A virus cores after penetration. *J Virol*. 2014;88:13029–46.
- Emtage JS, Catlin GH, Carey NH. Polyadenylation and reverse transcription of influenza viral RNA. *Nucleic Acids Res*. 1979;6:1221–39.
- Nayak DP, Hui EK, Barman S. Assembly and budding of influenza virus. *Virus Res*. 2004;106:147–65.
- Matsuoka Y, Matsumae H, Katoh M, Eisfeld AJ, Neumann G, Hase T, et al. A comprehensive map of the influenza A virus replication cycle. *BMC Syst Biol*. 2013;7:97.
- U. S. Food and Drug Administration. Drugs [consultado 28 Abr 2016]. Disponible en: www.fda.gov/drugs
- Centers for Disease Control and Prevention. Influenza (Flu) [consultado 28 Abr 2016]. Disponible en: <http://www.cdc.gov/flu>
- Schnell JR, Chou JJ. Structure and mechanism of the M2 proton channel of influenza A virus. *Nature*. 2008;451:591–5.
- Steinhauer DA, Wharton SA, Skehel JJ, Wiley DC, Hay AJ. Amantadine selection of a mutant influenza virus containing an acid-stable hemagglutinin glycoprotein: Evidence for virus-specific regulation of the pH of glycoprotein transport vesicles. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1991;88:11525–9.
- Zarubae VV, Golod EL, Anfimov PM, Shtro AA, Saraev VV, Gavrilo V AS, et al. Synthesis and anti-viral activity of azolo-adamantanes against influenza A virus. *Bioorg Med Chem*. 2010;18:839–48.
- Wu Y, Canturk B, Jo H, Ma C, Gianti E, Klein ML, et al. Flipping in the pore: Discovery of dual inhibitors that bind in different orientations to the wild-type versus the amantadine-resistant S31N mutant of the influenza A virus M2 proton channel. *J Am Chem Soc*. 2014;136:17987–95.
- Sidwell RW, Huffman JH, Barnard DL, Bailey KW, Wong MH, Morrison A, et al. Inhibition of influenza virus infections in mice by GS4104, an orally effective influenza virus neuraminidase inhibitor. *Antiviral Res*. 1998;37:107–20.
- Takashita E, Meijer A, Lackenby A, Gubareva L, Rebelo-de-Andrade H, Besse-laar T, et al. Global update on the susceptibility of human influenza viruses to neuraminidase inhibitors, 2013–2014. *Antiviral Res*. 2015;117:27–38.
- Kati WM, Montgomery D, Carrick R, Gubareva L, Maring C, McDaniel K, et al. In vitro characterization of A-315675, a highly potent inhibitor of A and B strain influenza virus neuraminidases and influenza virus replication. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002;46:1014–21.
- Abed Y, Nehme B, Baz M, Boivin G. Activity of the neuraminidase inhibitor A-315675 against oseltamivir-resistant influenza neuraminidases of N1 and N2 subtypes. *Antiviral Res*. 2008;77:163–6.
- Chen BL, Wang YJ, Guo H, Zeng GY. Design, synthesis, and biological evaluation of crenatoside analogues as novel influenza neuraminidase inhibitors. *Eur J Med Chem*. 2016;109:199–205.
- El-Nezhawy AO, Eweas AF, Maghrabi IA, Edalo AS, Abdelwahab SF. Design, synthesis, and molecular docking of novel pyrrolooxazepinediol derivatives with anti-influenza neuraminidase activity. *Arch Pharm (Weinheim)*. 2015;348:786–95.
- Jefferson T, Jones M, Doshi P, Spencer EA, Onakpoya I, Heneghan CJ. Oseltamivir for influenza in adults and children: Systematic review of clinical study reports and summary of regulatory comments. *BMJ*. 2014;348:g2545.
- Dobson J, Whitley RJ, Pocock S, Monto AS. Oseltamivir treatment for influenza in adults: A meta-analysis of randomised controlled trials. *Lancet*. 2015;385:1729–37.
- Adisasmito W, Chan PK, Lee N, Oner AF, Gasimov V, Aghayev F, et al. Effectiveness of antiviral treatment in human influenza A(H5N1) infections: Analysis of a Global Patient Registry. *J Infect Dis*. 2010;202:1154–60.
- Lee N, Choi KW, Chan PK, Hui DS, Lui GC, Wong BC, et al. Outcomes of adults hospitalised with severe influenza. *Thorax*. 2010;65:510–5.
- McGeer A, Green KA, Plevneshi A, Shigayeva A, Siddiqi N, Raboud J, et al. Antiviral therapy and outcomes of influenza requiring hospitalization in Ontario, Canada. *Clin Infect Dis*. 2007;45:1568–75.
- PHE guidance on use of antiviral agents for the treatment and prophylaxis of seasonal influenza (2015–16). Version 6.0, September 2015 [consultado 28 Abr 2016]. Disponible en: www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/457735/PHE_guidance_antivirals_influenza_2015_to_2016.pdf
- World Health Organization. WHO guidelines for pharmacological management of pandemic influenza A(H1N1) 2009 and other influenza viruses. Geneva: World Health Organization; 2010.
- Basu A, Antanasijevic A, Wang M, Li B, Mills DM, Ames JA, et al. New small molecule entry inhibitors targeting hemagglutinin-mediated influenza A virus fusion. *J Virol*. 2014;88:1447–60.
- Matsubara T, Onishi A, Saito T, Shimada A, Inoue H, Taki T, et al. Sialic acid-mimic peptides as hemagglutinin inhibitors for anti-influenza therapy. *J Med Chem*. 2010;53:4441–9.
- Wu W, Lin D, Shen X, Li F, Fang Y, Li K, et al. New influenza A virus entry inhibitors derived from the viral fusion peptides. *PLoS One*. 2015;10:e0138426.
- Teissier E, Zandomenighi G, Loquet A, Lavillette D, Lavergne JP, Montserret R, et al. Mechanism of inhibition of enveloped virus membrane fusion by the antiviral drug arbidol. *PLoS One*. 2011;6:e15874.

54. Trofimov FA, Tsyshkova NG, Zotova SA, Grinev AN. Synthesis of a new antiviral agent, arbidole. *Pharm Chem J*. 1993;27:75–6.
55. Kiselev OI, Maleev VV, Deeva EG, Leneva IA, Sel'kova EP, Osipova EA, et al. [Clinical efficacy of arbidol (umifenovir) in the therapy of influenza in adults: Preliminary results of the multicenter double-blind randomized placebo-controlled study ARBITR] Russian. *Ter Arkh*. 2015;87:88–96.
56. Leneva IA, Russell RJ, Boriskin YS, Hay AJ. Characteristics of arbidol-resistant mutants of influenza virus: Implications for the mechanism of anti-influenza action of arbidol. *Antiviral Res*. 2009;81:132–40.
57. Brancato V, Peduto A, Wharton S, Martin S, More V, Di Mola A, et al. Design of inhibitors of influenza virus membrane fusion: Synthesis, structure-activity relationship and in vitro antiviral activity of a novel indole series. *Antiviral Res*. 2013;99:125–35.
58. Whittle JRR, Zhang R, Khurana S, King LR, Manischewitz J, Golding H, et al. Broadly neutralizing human antibody that recognizes the receptor-binding pocket of influenza virus hemagglutinin. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108:14216–21.
59. Benjamin E, Wang W, McAuliffe JM, Palmer-Hill FJ, Kallewaard NL, Chen Z, et al. A broadly neutralizing human monoclonal antibody directed against a novel conserved epitope on the influenza virus H3 hemagglutinin globular head. *J Virol*. 2014;88:6743–50.
60. Koday MT, Nelson J, Chevalier A, Koday M, Kalinoski H, Stewart L, et al. A computationally designed hemagglutinin stem-binding protein provides in vivo protection from influenza independent of a host immune response. *PLoS Pathog*. 2016;12:e1005409.
61. Furuta Y, Takahashi K, Kuno-Maekawa M, Sangawa H, Uehara S, Kozaki K, et al. Mechanism of action of T-705 against influenza virus. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005;49:981–6.
62. Kiso M, Takahashi K, Sakai-Tagawa Y, Shinya K, Sakabe S, Le QM, et al. T-705 (favipiravir) activity against lethal H5N1 influenza A viruses. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107:882–7.
63. Smee DF, Hurst BL, Wong MH, Bailey KW, Tarbet EB, Morrey JD, et al. Effects of the combination of favipiravir (T-705) and oseltamivir on influenza A virus infections in mice. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010;54:126–33.
64. Tarbet EB, Maekawa M, Furuta Y, Babu YS, Morrey JD, Smee DF. Combinations of favipiravir and peramivir for the treatment of pandemic influenza A/California/04/2009 (H1N1) virus infections in mice. *Antiviral Res*. 2012;94:103–10.
65. Cianci C, Tiley L, Krystal M. Differential activation of the influenza virus polymerase via template RNA binding. *J Virol*. 1995;69:3995–9.
66. Bouloy M, Morgan MA, Shatkin AJ, Krug RM. Cap and internal nucleotides of reovirus mRNA primers are incorporated into influenza viral complementary RNA during transcription in vitro. *J Virol*. 1979;32:895–904.
67. Severin C, Rocha de Moura T, Liu Y, Li K, Zheng X, Luo M. The cap-binding site of influenza virus protein PB2 as a drug target. *Acta Crystallogr D Struct Biol*. 2016;72 Pt 2:245–53.
68. Clark MP, Ledebor MW, Davies I, Byrn RA, Jones SM, Perola E, et al. Discovery of a novel, first-in-class, orally bioavailable azaindole inhibitor (VX-787) of influenza PB2. *J Med Chem*. 2014;57:6668–78.
69. Byrn RA, Jones SM, Bennett HB, Bral C, Clark MP, Jacobs MD, et al. Pre-clinical activity of VX-787, a first-in-class, orally bioavailable inhibitor of the influenza virus polymerase PB2 subunit. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015;59:1569–82.
70. Portela A, Digard P. The influenza virus nucleoprotein: A multifunctional RNA-binding protein pivotal to virus replication. *J Gen Virol*. 2002;83 Pt 4: 723–34.
71. Amorim MJ, Kao RY, Digard P. Nucleozin targets cytoplasmic trafficking of viral ribonucleoprotein-Rab11 complexes in influenza A virus infection. *J Virol*. 2013;87:4694–703.
72. Cheng H, Wan J, Lin MI, Liu Y, Lu X, Liu J, et al. Design, synthesis, and in vitro biological evaluation of 1H-1,2,3-triazole-4-carboxamide derivatives as new anti-influenza A agents targeting virus nucleoprotein. *J Med Chem*. 2012;55:2144–53.
73. Lejal N, Tarus B, Bouguyon E, Chenavas S, Bertho N, Delmas B, et al. Structure-based discovery of the novel antiviral properties of naproxen against the nucleoprotein of influenza A virus. *Antimicrob Agents Chemother*. 2013;57:2231–42.
74. Tarus B, Bertrand H, Zedda G, di Primo C, Quideau S, Slama-Schwok A. Structure-based design of novel naproxen derivatives targeting monomeric nucleoprotein of Influenza A virus. *J Biomol Struct Dyn*. 2015;33: 1899–912.
75. Hatada E, Fukuda R. Binding of influenza A virus NS1 protein to dsRNA in vitro. *J Gen Virol*. 1992;73 Pt 12:3325–9.
76. Lu Y, Wambach M, Katze MG, Krug RM. Binding of the influenza virus NS1 protein to double-stranded RNA inhibits the activation of the protein kinase that phosphorylates the eIF-2 translation initiation factor. *Virology*. 1995;214:222–8.
77. Alonso-Caplen FV, Nemeroff ME, Qiu Y, Krug RM. Nucleocytoplasmic transport: The influenza virus NS1 protein regulates the transport of spliced NS2 mRNA and its precursor NS1 mRNA. *Genes Dev*. 1992;6:255–67.
78. Fortes P, Beloso A, Ortin J. Influenza virus NS1 protein inhibits pre-mRNA splicing and blocks mRNA nucleocytoplasmic transport. *EMBO J*. 1994;13:704–12.
79. Qiu Y, Krug RM. The influenza virus NS1 protein is a poly(A)-binding protein that inhibits nuclear export of mRNAs containing poly(A). *J Virol*. 1994;68:2425–32.
80. García-Sastre A, Egorov A, Matassov D, Brandt S, Levy DE, Durbin JE, et al. Influenza A virus lacking the NS1 gene replicates in interferon-deficient systems. *Virology*. 1998;252:324–30.
81. Gack MU, Albrecht RA, Urano T, Inn KS, Huang IC, Carnero E, et al. Influenza A virus NS1 targets the ubiquitin ligase TRIM25 to evade recognition by the host viral RNA sensor RIG-I. *Cell Host Microbe*. 2009;5:439–49.
82. Kuo RL, Li LH, Lin SJ, Li ZH, Chen GW, Chang CK, et al. The role of N-terminus-truncated NS1 proteins of influenza A virus in inhibiting IRF3 activation. *J Virol*. 2016;90:4696–705.
83. Basu D, Walkiewicz MP, Frieman M, Baric RS, Auble DT, Engel DA. Novel influenza virus NS1 antagonists block replication and restore innate immune function. *J Virol*. 2009;83:1881–91.
84. Jablonski JJ, Basu D, Engel DA, Geysen HM. Design, synthesis, and evaluation of novel small molecule inhibitors of the influenza virus protein NS1. *Bioorg Med Chem*. 2012;20:487–97.
85. Walkiewicz MP, Basu D, Jablonski JJ, Geysen HM, Engel DA. Novel inhibitor of influenza non-structural protein 1 blocks multi-cycle replication in an RNase L-dependent manner. *J Gen Virol*. 2011;92 Pt 1:60–70.
86. Nayak MK, Agrawal AS, Bose S, Naskar S, Bhowmick R, Chakrabarti S, et al. Antiviral activity of baicalin against influenza virus H1N1-pdm09 is due to modulation of NS1-mediated cellular innate immune responses. *J Antimicrob Chemother*. 2014;69:1298–310.
87. Shapira SD, Gat-Viks I, Shum BO, Dricot A, de Grace MM, Wu L, et al. A physical and regulatory map of host-influenza interactions reveals pathways in H1N1 infection. *Cell*. 2009;139:1255–67.
88. Watanabe T, Kawakami E, Shoemaker JE, Lopes TJ, Matsuoka Y, Tomita Y, et al. Influenza virus-host interactome screen as a platform for antiviral drug development. *Cell Host Microbe*. 2014;16:795–805.
89. De Chasse B, Meyniel-Schicklin L, Aublin-Gex A, André P, Lotteau V. Genetic screens for the control of influenza virus replication: From meta-analysis to drug discovery. *Mol Biosyst*. 2012;8:1297–303.
90. Moss RB, Hansen C, Sanders RL, Hawley S, Li T, Steigbigel RT. A phase II study of DAS181, a novel host directed antiviral for the treatment of influenza infection. *J Infect Dis*. 2012;206:1844–51.
91. Malakhov MP, Aschenbrenner LM, Smee DF, Wandersee MK, Sidwell RW, Gubareva LV, et al. Sialidase fusion protein as a novel broad-spectrum inhibitor of influenza virus infection. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006;50:1470–9.
92. Zhirnov OP, Matrosovich TY, Matrosovich MN, Klenk HD. Aprotinin, a protease inhibitor, suppresses proteolytic activation of pandemic H1N1v influenza virus. *Antivir Chem Chemother*. 2011;21:169–74.
93. Ovcharenko AV, Zhirnov OP. Aprotinin aerosol treatment of influenza and paramyxovirus bronchopneumonia of mice. *Antiviral Res*. 1994;23:107–18.
94. Meyer D, Sielaff F, Hammami M, Botcher-Friebertshauser E, Garten W, Steinmetzer T. Identification of the first synthetic inhibitors of the type II transmembrane serine protease TMPRSS2 suitable for inhibition of influenza virus activation. *Biochem J*. 2013;452:331–43.
95. Razinkov VI, Melikyan GB, Epand RM, Epand RF, Cohen FS. Effects of spontaneous bilayer curvature on influenza virus-mediated fusion pores. *J Gen Physiol*. 1998;112:409–22.
96. Harada S. The broad anti-viral agent glycyrrhizin directly modulates the fluidity of plasma membrane and HIV-1 envelope. *Biochem J*. 2005;392 Pt 1:191–9.
97. Wolkerstorfer A, Kurz H, Bachhofner N, Szolar OH. Glycyrrhizin inhibits influenza A virus uptake into the cell. *Antiviral Res*. 2009;83:171–8.
98. Wolf MC, Freiberg AN, Zhang T, Akyol-Ataman Z, Grock A, Hong PW, et al. A broad-spectrum antiviral targeting entry of enveloped viruses. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107:3157–62.
99. Guinea R, Carrasco L. Requirement for vacuolar proton-ATPase activity during entry of influenza virus into cells. *J Virol*. 1995;69:2306–12.
100. Ochiai H, Sakai S, Hirabayashi T, Shimizu Y, Terasawa K. Inhibitory effect of bafilomycin A1, a specific inhibitor of vacuolar-type proton pump, on the growth of influenza A and B viruses in MDCK cells. *Antiviral Res*. 1995;27:425–30.
101. Muller KH, Kainov DE, El Bakkouri K, Saelens X, de Brabander JK, Kittel C, et al. The proton translocation domain of cellular vacuolar ATPase provides a target for the treatment of influenza A virus infections. *Br J Pharmacol*. 2011;164:344–57.
102. Wang X, Hinson ER, Cresswell P. The interferon-inducible protein viperin inhibits influenza virus release by perturbing lipid rafts. *Cell Host Microbe*. 2007;2:96–105.
103. Naito T, Momose F, Kawaguchi A, Nagata K. Involvement of Hsp90 in assembly and nuclear import of influenza virus RNA polymerase subunits. *J Virol*. 2007;81:1339–49.
104. Chase G, Deng T, Fodor E, Leung BW, Mayer D, Schwemmler M, et al. Hsp90 inhibitors reduce influenza virus replication in cell culture. *Virology*. 2008;377:431–9.
105. Streeter DG, Witkowski JT, Khare GP, Sidwell RW, Bauer RJ, Robins RK, et al. Mechanism of action of 1-beta-D-ribofuranosyl-1,2,4-triazole-3-carboxamide (Virazole), a new broad-spectrum antiviral agent. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1973;70:1174–8.
106. Stephen EL, Walker JS, Dominik JW, Young HW, Berendt RF. Aerosol therapy of influenza infections of mice and primates with rimantadine, ribavirin, and related compounds. *Ann N Y Acad Sci*. 1977;284:264–71.
107. Cohen A, Togo Y, Khakoo R, Waldman R, Sigel M. Comparative clinical and laboratory evaluation of the prophylactic capacity of ribavirin, amantadine hydrochloride, and placebo in induced human influenza type A. *J Infect Dis*. 1976;133 Suppl:A114–20.

108. Rodriguez WJ, Hall CB, Welliver R, Simoes EA, Ryan ME, Stutman H, et al. Efficacy and safety of aerosolized ribavirin in young children hospitalized with influenza: A double-blind, multicenter, placebo-controlled trial. *J Pediatr*. 1994;125:129–35.
109. Perwitasari O, Johnson S, Yan X, Howerth E, Shacham S, Landesman Y, et al. Verdinoxor, a novel selective inhibitor of nuclear export, reduces influenza A virus replication in vitro and in vivo. *J Virol*. 2014;88:10228–43.
110. Rossignol JF, La Frazia S, Chiappa L, Ciucci A, Santoro MG. Thiazolidines, a new class of anti-influenza molecules targeting viral hemagglutinin at the post-translational level. *J Biol Chem*. 2009;284:29798–808.
111. Haffizulla J, Hartman A, Hoppers M, Resnick H, Samudrala S, Ginocchio C, et al. Effect of nitazoxanide in adults and adolescents with acute uncomplicated influenza: A double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 2b/3 trial. *Lancet Infect Dis*. 2014;14:609–18.
112. Pleschka S, Wolff T, Ehrhardt C, Hobom G, Planz O, Rapp UR, et al. Influenza virus propagation is impaired by inhibition of the Raf/MEK/ERK signalling cascade. *Nat Cell Biol*. 2001;3:301–5.
113. Ludwig S, Wolff T, Ehrhardt C, Wurzer WJ, Reinhardt J, Planz O, et al. MEK inhibition impairs influenza B virus propagation without emergence of resistant variants. *FEBS Lett*. 2004;561:37–43.
114. Droebner K, Pleschka S, Ludwig S, Planz O. Antiviral activity of the MEK-inhibitor U0126 against pandemic H1N1v and highly pathogenic avian influenza virus in vitro and in vivo. *Antiviral Res*. 2011;92:195–203.
115. Haasbach E, Hartmayer C, Planz O. Combination of MEK inhibitors and oseltamivir leads to synergistic antiviral effects after influenza A virus infection in vitro. *Antiviral Res*. 2013;98:319–24.
116. Wurzer WJ, Ehrhardt C, Pleschka S, Berberich-Siebelt F, Wolff T, Walczak H, et al. NF-kappaB-dependent induction of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) and Fas/FasL is crucial for efficient influenza A virus propagation. *J Biol Chem*. 2004;279:30931–7.
117. Nimmerjahn F, Dudziak D, Dirmeier U, Hobom G, Riedel A, Schlee M, et al. Active NF-kappaB signalling is a prerequisite for influenza virus infection. *J Gen Virol*. 2004;85 Pt 8:2347–56.
118. Mazur I, Wurzer WJ, Ehrhardt C, Pleschka S, Puthavathana P, Silberzahn T, et al. Acetylsalicylic acid (ASA) blocks influenza virus propagation via its NF-kappaB-inhibiting activity. *Cell Microbiol*. 2007;9:1683–94.
119. Dodson AW, Taylor TJ, Knipe DM, Coen DM. Inhibitors of the sodium potassium ATPase that impair herpes simplex virus replication identified via a chemical screening approach. *Virology*. 2007;366:340–8.
120. Kapoor A, Cai H, Forman M, He R, Shamay M, Arav-Boger R. Human cytomegalovirus inhibition by cardiac glycosides: Evidence for involvement of the HERG gene. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012;56:4891–9.
121. García-Dorival I, Wu W, Dowall S, Armstrong S, Touzelet O, Wastling J, et al. Elucidation of the Ebola virus VP24 cellular interactome and disruption of virus biology through targeted inhibition of host-cell protein function. *J Proteome Res*. 2014;13:5120–35.
122. Burkard C, Verheije MH, Haagmans BL, van Kuppeveld FJ, Rottier PJ, Bosch BJ, et al. ATP1A1-mediated Src signaling inhibits coronavirus entry into host cells. *J Virol*. 2015;89:4434–48.
123. Thete D, Danthi P. Conformational changes required for reovirus cell entry are sensitive to pH. *Virology*. 2015;483:291–301.
124. Deng L, Dai P, Ciro A, Smee DF, Djaballah H, Shuman S. Identification of novel antipoxviral agents: Mitoxantrone inhibits vaccinia virus replication by blocking virion assembly. *J Virology*. 2007;81:13392–402.
125. Hoffmann HH, Palese P, Shaw ML. Modulation of influenza virus replication by alteration of sodium ion transport and protein kinase C activity. *Antiviral Res*. 2008;80:124–34.
126. Katzen J, Hurtado J, Lecuona E, Sznajder JI. The cardioactive glycoside ouabain inhibits influenza A viral replication. *Am J Respir Crit Care Med*. 2014;189: Abstract A2733.