
Revisión

Jordi Reina

Situación actual del tratamiento farmacológico frente a la enfermedad causada por el virus Ébola

Unidad de Virología. Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Son Espases. Palma de Mallorca

RESUMEN

La reciente epidemia de enfermedad causada por el virus Ébola ha puesto en evidencia la necesidad de desarrollar y disponer de fármacos específicos para hacer frente a esta entidad. De acuerdo con los datos virológicos se han diseñado algunos fármacos nuevos y se ha comprobado que otros podrían tener eficacia frente a este virus.

Las principales líneas terapéuticas se basan en la inmunoterapia (suero de pacientes convalescentes y anticuerpos monoclonales específicos), en fármacos antivirales (favipiravir, BCX4430, Brincidofovir), RNAs de interferencia (TKM-Ébola) y oligonucleótidos sin sentido (morfolino fosforodiamidato) y otros fármacos no antivirales (clomifeno, NSC62914, FGI-103, amilorida y la ouabaina).

Los estudios existentes son escasos y principalmente en modelos animales y los ensayos clínicos han quedado la mayoría inconclusos por la disminución drástica del número de nuevos casos.

A pesar de ello se ha avanzado en el conocimiento biológico del virus Ébola y se han localizado nuevas dianas terapéuticas para el futuro desarrollo de antivirales específicos.

Palabras clave: Virus Ébola; tratamiento; inmunoterapia; fármacos antivirales.

Current status of drug treatment against the disease caused by the Ebola virus

ABSTRACT

The recent epidemic of disease caused by the Ebola virus has highlighted the need to develop specific drugs and have to deal with this entity. According to virological analysis they have been designed to give you some new drugs and are proven to others might be effective against this virus.

The main lines of therapy are based on immunotherapy (convalescent serum of patients and specific monoclonal antibodies), antiviral drugs (favipiravir, BCX4430, brincidofovir), interfering RNAs (TKM-Ebola) and antisense oligonucleotides (morpholino phosphorodiamidate) and other drugs no antiviral (clomiphene NSC62914, FGI-103, amiloride and ouabain).

Existing studies are scarce and mainly in animal models and clinical trials have been inconclusive most by the drastic reduction in the number of new cases.

However, progress has been made in the biological knowledge of Ebola virus and have been located new therapeutic targets for the future development of specific antiviral.

Key words: Ebola virus; therapy; immunotherapy; antiviral drugs.

INTRODUCCIÓN

La reciente epidemia de enfermedad causada por el virus Ébola, que ha afectado a más de 28.000 personas y ha ocasionado un mínimo de 11.000 fallecimientos directos, ha puesto en evidencia la necesidad de disponer de algún tipo de arsenal terapéutico para hacer frente a este tipo de situaciones¹.

Aunque se habían producido anteriormente brotes de esta misma enfermedad, nunca con la magnitud de la actual. Por ello apenas se había avanzado en la búsqueda y análisis de posibles fármacos o terapias alternativas frente a esta enfermedad.

Correspondencia:
Jordi Reina
Unidad de Virología. Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Son Espases. 07010
Palma de Mallorca
E-mail: jorge.reina@ssib.es

La OMS en 2014 instó a las industrias farmacéuticas y a la propia comunidad internacional a incrementar los recursos destinados a obtener y evaluar tratamientos eficaces frente al virus Ébola^{2,3}. En base a datos y estudios previos se han ido mejorando algunos fármacos y se han diseñado algunos de ellos específicamente para este virus. Así mismo, se ha comprobado que algunos antivirales eficaces frente a otros virus, podrían ser de cierta utilidad en esta enfermedad.

En estos momentos el abanico de opciones terapéuticas es amplio aunque con pocos estudios en primates o seres humanos. Sin embargo, debe conocerse la situación actual del tratamiento farmacológico frente a la enfermedad causada por el Ébola, ya que la epidemia todavía no ha finalizado y puede resurgir en cualquier otro país.

INMUNOTERAPIA

Suero de pacientes convalecientes. La utilización de suero terapia se ha utilizado durante muchos años para el tratamiento empírico de ciertas enfermedades infecciosas. Por ello, frente al reto del Ébola, se planteó la posible utilidad del suero de los pacientes que sobrevivieran a la enfermedad y que por lo tanto tendrían concentraciones significativas de anticuerpos neutralizantes frente a este virus^{2,4}. Los pacientes que sobreviven al Ébola presentan niveles intensos de IgG frente a la NP y la VP40 del virus. En un brote en Kilwit en 1995 ya se pudo comprobar que el suero de estos pacientes producía mejoría clínica en pacientes de mayor gravedad⁵.

De acuerdo con la patofisiología del Ébola, durante los primeros días de la infección el ser humano apenas es capaz de producir anticuerpos específicos con actividad neutralizante; siendo la inmunidad celular la predominante en esta etapa^{4,6}. Así, parecería lógico ayudar al organismo humano con los anticuerpos ya existentes en el suero de las personas que sobrevivieran a la enfermedad. Basándose en esta hipótesis la propia OMS estableció un protocolo muy estricto y minucioso de cómo debería ser este tipo de tratamiento y de la recogida y procesado de este suero^{2,3}.

Los pocos casos tratados con este tipo de sueros no son suficientes para extraer conclusiones definitivas, ya que en general se han asociado con otras medidas terapéuticas. Se ha comprobado que los anticuerpos monoclonales neutralizantes de origen humano son capaces de proteger al ratón y al cobaya de la infección por el virus Ébola⁷. Sin embargo su eficacia disminuye drásticamente si se administran más allá del 3-4 día del inicio de las manifestaciones clínicas⁸.

En estos momentos la utilización de este tipo de suero está algo controvertida debido a su propia obtención, a pesar de las recopilaciones masivas que se han realizado durante la epidemia y que permanecen congeladas, no parece que aparezcan nuevos pacientes para obtener nuevos sueros. Además los controles biológicos y, especialmente microbiológicos, son esenciales sobre todo por el origen africano de estos sueros^{2,3,9}.

Anticuerpos monoclonales específicos. Siguiendo el principio de ayudar al sistema inmunológico del paciente en

los primeros días de la infección y ante las dudas de los sueros humanos, se ha intentado solucionar el problema con la producción *in vitro* de anticuerpos monoclonales específicos frente al virus Ébola^{10,11}.

La infección natural por el virus Ébola determina la inducción de anticuerpos neutralizantes dirigidos básicamente contra la glicoproteína transmembrana GP, la cual es esencial en los procesos de unión al receptor celular, el proceso de fusión y la entrada en el huésped¹². Los primeros estudios se realizaron en 2014, obteniéndose un panel de anticuerpos monoclonales murinos con capacidad para dar reacción cruzada, avidéz y capacidad de fijación a los principales epítomos de la GP viral¹¹.

A partir de ellos se seleccionaron aquellos anticuerpos de mayor afinidad y especificidad (MB-003 y Zmab); cada uno de ellos contiene tres anticuerpos monoclonales únicos y propios^{12,13}. El MB-003 está formado por tres anticuerpos monoclonales quiméricos humanizados (c13C6, c6D8 y h13F6)¹⁴; mientras que el Zmab está compuesto por otros tres anticuerpos del mismo tipo biológico (m1H3, m2G4 y m4G7)^{14,15}. Ambos preparados aportan una inmunización pasiva frente al virus Ébola actuando y reaccionando directamente contra los principales epítomos del virus¹⁴⁻¹⁶.

El Zmab ha mostrado una eficacia del 100% en primates no humanos cuando se administra 24 horas después de la exposición al virus y otras dos dosis adicionales a los 3 días. Sin embargo, si la primera dosis se administra más allá de las 48 horas iniciales sólo se recuperan el 50% de los animales¹⁷. Por su parte el MB-003 también ha mostrado una buena eficacia protectora (67%) cuando se administra durante las primeras 48 horas postexposición^{15,16}.

Para optimizar la combinación de anticuerpos monoclonales presentes en los dos preparados, Qiu et al.¹⁷ estudiaron la eficacia protectora en animales de diferentes combinaciones de los anticuerpos presentes tanto en el Zmab como en el MB-003; así desarrollaron una combinación nueva (Zmapp) consistente en el monoclonal c13C6 del MB-003 y los monoclonales 2G4 y 4G7 del Zmab^{17,18}. Su utilización experimental en macacos demostró que a pesar de la aparición de síntomas de la enfermedad, todos los animales sobrevivieron a la misma.

A partir de estos datos, en julio de 2014 se trataron en USA dos pacientes con esta combinación y ambos mostraron un descenso significativo de la viremia; sin embargo la mejoría no pudo atribuirse exclusivamente a este fármaco ya que recibieron de forma simultánea otras terapias¹⁹.

En febrero de 2015 se inició un ensayo clínico en Liberia destinado a evaluar la seguridad y eficacia del Zmapp en el tratamiento del Ébola. Sin embargo, debido a la disminución importante del número de nuevos de Ébola, el ensayo tuvo que modificarse y detenerse al carecer de potencia estadística²⁰.

FÁRMACOS ANTIVIRALES

Favipiravir (T-705). El favipiravir (6-fluoro-3-hydroxy-2-pyrazinecarboxamide) es un potente inhibidor de la RNA-

polimerasa viral de amplio espectro, capaz de bloquear la replicación de un gran número de virus de genoma RNA (figura 1)^{13,15,21,22}. El fármaco se desarrolló en Japón inicialmente para el tratamiento de la gripe^{22,23}. Los primeros estudios demostraron que este fármaco era capaz de inhibir la replicación del virus Ébola en los cultivos celulares^{9,10,16}. Posteriormente Oesterreich et al.²⁴ demostraron que su administración después de la infección por el virus Ébola en ratones inducía un rápido aclaramiento sanguíneo del virus (disminución carga viral), un descenso de los parámetros bioquímicos que determinan la severidad de la enfermedad y prevenía la letalidad en el 100% de los animales estudiados.

En otros ensayos se comprobó que la administración oral de favipiravir 2 veces/día durante 14 días era capaz de proteger al 100% de los ratones inmunodeficientes infectados por vía aérea²⁵. Sin embargo los estudios realizados en primates no humanos dieron resultados subóptimos; sólo uno de los 6 animales sobrevivió. Están en proceso nuevos estudios sobre dosis superiores o mayor duración para ser aplicados en humanos³.

Los resultados de otros estudios todavía no han sido publicados pero se acepta su utilización como tratamiento compasivo²⁶. Aunque se han hecho cálculos matemáticos sobre la posible dosis humana (2.400 mg primer día y 1.400 mg/día el resto de los días), no existe ningún consenso sobre su utilización, aunque algunos autores apuntan la posibilidad de que a pesar de no existir datos definitivos, y en ausencia de otras terapias mejores, pueda utilizarse incluso como profilaxis post-exposición o pre-exposición durante el tiempo que la posible vacuna necesite para obtener eficacia protectora^{9,21}.

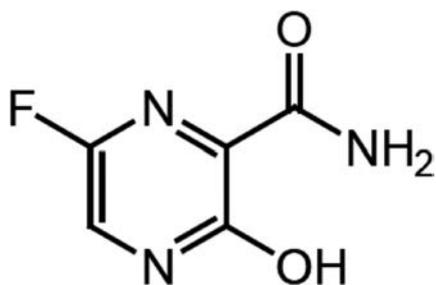


Figura 1 Estructura química del compuesto Favipiravir (T-705; (6-fluoro-3-hydroxy-2-pyrazinecarboxamide).

BCX4430. El BCX4430 es un nuevo análogo de la adenosina capaz de inhibir la actividad de la RNA-polimerasa viral, lo cual comporta el bloqueo de la replicación del mismo (figura 2)^{21,22}.

Este compuesto ha demostrado resultados prometedores en ratones y chimpancés infectados por el virus Ébola; de este modo se ha comprobado que protege al 100% de los primates

infectados por el virus Ébola y Marburg cuando se administra 48 horas después de la infección viral^{27,28}. También se han observado disminución de la viremia y de los marcadores de severidad de la infección (coagulopatía, función hepática) cuando se administran a este tipo de animales^{22,27}.

No existen datos definitivos obtenidos en seres humanos y se desconoce la dosis o los posibles efectos adversos en el mismo. La administración oral ha mostrado bajos niveles séricos de modo que la ruta intramuscular sería, inicialmente, la más aconsejable. Recientemente se ha iniciado un ensayo clínico Fase I para evaluar la seguridad, tolerabilidad y farmacocinética en personas sanas²⁹.

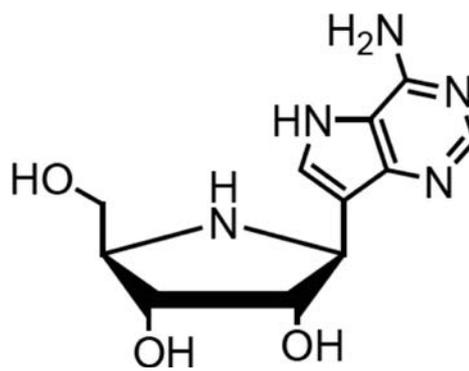


Figura 2 Estructura química del compuesto BCX4430 (análogo de la adenosina).

Brincidofovir (CMX001). El brincidofovir es un precursor del cidofovir (conjugado éter lipídico) y un potente inhibidor de la DNA-polimerasa de los virus con genoma tipo DNA (figura 3)^{7,9,10,22}. Este fármaco se define como un antiviral lipídico conjugado formado por un lípido (1-0-hexadecil-1-oxipropil) unido covalentemente a un análogo nucleótido acíclico del cidofovir. La porción lipídica facilita e incrementa la penetración celular y la obtención de elevadas concentraciones en la célula y bajas a nivel plasmático^{30,31}. De este modo puede adminis-

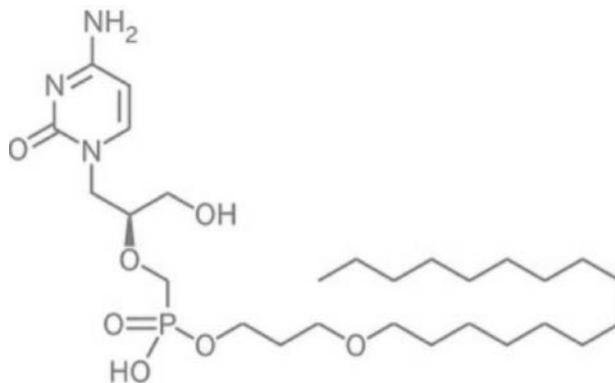


Figura 3 Estructura química del compuesto Brincidofovir (CMX001).

trarse por vía oral y es más activo y carece de la nefrotoxicidad del cidofovir⁹. El brincidofovir ha mostrado una buena eficacia terapéutica frente a los herpesvirus, citomegalovirus y adenovirus³¹. Aunque se desconoce su verdadero mecanismo de acción, es capaz de inhibir *in vitro* la replicación del virus Ébola que posee un genoma de tipo RNA^{10,22}.

Se inició un ensayo clínico multicéntrico en Fase II para observar la seguridad y eficacia del brincidofovir en pacientes con enfermedad causada por el virus Ébola, pero el descenso drástico en el número de pacientes no ha permitido concluirlo y extraer datos definitivos^{32,33}.

RNAs DE INTERFERENCIA Y OLIGONUCLEÓTIDOS SIN SENTIDO

Los pequeños RNAs interferidores (siRNAs) actúan produciendo la rotura de los RNAs mensajeros virales que transportan la información a los ribosomas, determinando un bloqueo en la síntesis proteica viral^{9,22}. Uno de los más ensayados ha sido el TKM-Ébola, que ha demostrado su capacidad para prevenir la infección viral en animales infectados por el virus Ébola^{10,13,34}. El TKM-100802 es una combinación de tres siRNAs que se unen a la RNA-polimerasa RNA-dependiente tipo L, a la VP24 y a la VP35 viral^{34,35}. Estas moléculas están diseñadas en forma de partículas estables ácido nucleico-lipídicas (SNALPs).

El TKM-Ébola se administró por vía intramuscular a los 30 minutos de recibir la dosis infectiva viral. En los animales que recibieron este fármaco durante los días 1, 3 y 5 se obtuvo un 66% de protección³⁶. Debido que los pocos estudios en humanos se realizaron en pacientes tratados simultáneamente con otras terapias no se ha podido extraer una conclusión definitiva sobre su verdadera eficacia clínica^{35,36}.

En 2014 se inició un ensayo Fase I para evaluar la seguridad y farmacocinética en voluntarios. El ensayo tuvo que detenerse debido a la aparición en casi todos los voluntarios de manifestaciones inflamatorias mediadas por citoquinas³⁷. Se comprobó que los siRNAs estimulaban el sistema inmune innato dando lugar una elevación del factor de necrosis tumoral, IL-6, interferón-alfa y complemento. La FDA revisó el protocolo y estableció el inicio de uno nuevo con dosis inferiores al anterior.

A principios de 2015 se puso en marcha otro ensayo Fase II en Guinea, cuyos datos preliminares demostraron que el TKM-Ébola no mostraba ningún beneficio terapéutico en la enfermedad causada por el virus Ébola³⁸.

A pesar de ello están en estudio y desarrollo otros fármacos basados en los siRNAs, como los oligómeros antisentido morfolino fosforodiamidato (figura 4). Estos agentes incluyen los fármacos designados como AVIs (antiviral-interfering), que están formados por múltiples oligómeros con residuos piperacina positivamente cargados situados a lo largo del esqueleto oligomérico^{13,39}. El desarrollo de estos fármacos se basa en la inestabilidad *in vivo* de los oligonucleotidos no modificados, ya que rápidamente son hidrolizados por las RNAsas y penetran escasamente en las células¹³.

Para tratar al virus Ébola se han diseñado oligómeros basados en las secuencias genéticas de la VP24, VP30, GP, VP40, VP35 y NP; de todos ellos los que mostraron una mayor eficacia protectora en animales de experimentación fueron el VP35 (AVI-7539) y el VP24 (AVI-7537), constituyendo ambos el fármaco designado como AVI-6002^{39,40}.

Se han iniciado dos ensayos clínicos con estos compuestos en Fase I para analizar la seguridad y farmacocinética, obteniéndose resultados esperanzadores^{13,40}.

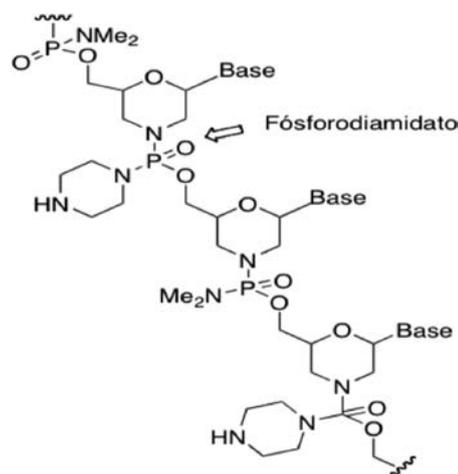


Figura 4 Estructura química de los compuestos morfolino fosforodiamidato (basados en los siRNA).

OTROS FÁRMACOS

La búsqueda de nuevas moléculas con posible eficacia frente al virus Ébola ha permitido conocer que algunos fármacos ya utilizados para otras entidades podrían presentar alguna eficacia antiviral⁷.

De este modo se ha podido demostrar que algunos compuestos modificadores de los receptores estrogénicos como el clomifeno o toremifeno (figura 5) son unos inhibidores potentes de la entrada del virus Ébola en la célula diana⁴¹. La actividad antiviral de estos compuestos no se debe a su actividad antagonista con los receptores de estrógenos sino en inducir un fenotipo Niemann-Pick C-like, bloqueando la entrada viral en las estructuras endosómicas celulares⁴². La administración de clomifeno y toremifeno (60 mg/Kg/día) ha mostrado una supervivencia del 90 y 50% en células infectadas por el virus Ébola, comparadas con el 100% de mortalidad de las células no tratadas^{42,43}.

El compuesto NSC 62914 (figura 5) que posee actividad *in vitro* e *in vivo* frente a los virus del Ébola y Marburg entre otros, se encontró en el cribado de otras estructuras. Este compuesto es un antioxidante que atrapa especies reactivas de oxígeno, modulando así el estrés oxidativo. Sin embargo, dado que cuando se estudiaron otros compuestos antioxidantes no se observó ningún efecto antiviral, se cree que su acción anti-

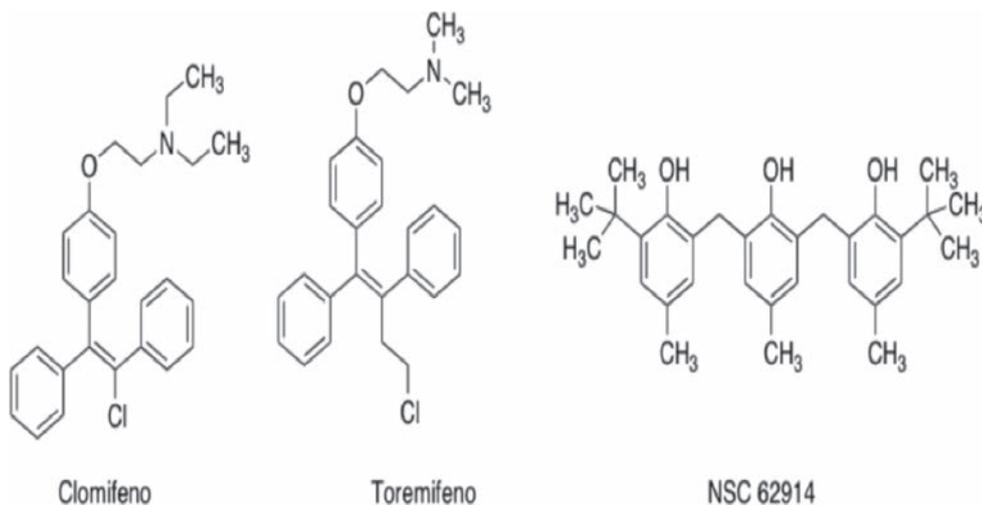


Figura 5 Otros compuestos químicos que han mostrado alguna eficacia *in vitro* frente al virus Ébola.

viral debe implicar la modulación de múltiples dianas o vías de señalización⁴⁴.

Los agentes FGI-103, FGI-104 y FGI-106 (quino[8,7-h]quinoline-1,7diamine,N,N'-bis[3-(dimethylamino)propyl]-3,9-dimethyl-,tetrahydrochlorid e) (Figura 6) son un conjunto de compuestos de amplio espectro que poseen capacidad para inhibir la replicación viral de varios virus, incluyendo el virus del Ébola⁶. En el modelo murino, Aman et al.⁴⁵ han demostrado que el FGI-106 aporta protección profiláctica frente a este virus; otros estudios también han aportado datos prometedores aunque no concluyentes y todos en animales^{6,9}.

La amilorida y sus derivados (intercambiadores de Na/K) se utilizan como potentes diuréticos para tratar la hiperten-

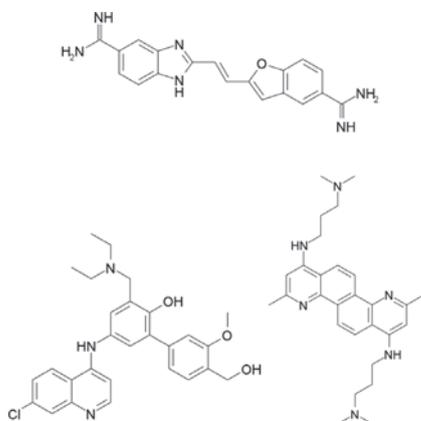


Figura 6 Estructuras químicas de los compuestos químicos FGI-103, FGI-104 y FGI-106.

sión arterial y la insuficiencia cardíaca. Además de actuar sobre la bomba de Na/K, también interactúan con el intercambio de otros iones como Na/Ca o Na/Mg⁶. La amilorida es capaz *in vitro* de inhibir la entrada de los virus que utilizan la ruta

macropinocítica para infectar las células. Este fármaco ha mostrado ser un potente inhibidor dosis-dependiente de la síntesis proteica del virus Ébola⁴⁶. Los resultados son sólo *in vitro* pero abre la puerta a una nueva línea de investigación en fármacos antivirales^{6,46}.

En otros estudios se ha descrito que otros inhibidores de la bomba de Na/K, como la ouabaina, son capaces de bloquear la replicación celular del virus Ébola a concentraciones no tóxicas. Se precisan más estudios para su confirmación y evaluación en humanos^{6,9}.

En resumen se sigue la búsqueda de nuevos fármacos con actividad específica frente al virus Ébola, sin embargo los estudios sólo pueden realizarse en cultivos celulares y en modelos experimentales. Deberá tenerse en cuenta la evolución y las posibles mutaciones adaptativas del virus Ébola para actualizar los fármacos dirigidos contra su genoma. El descenso del número de casos no está permitiendo realizar ensayos clínicos controlados que demuestren la seguridad, reactividad y eficacia clínica de estos nuevos antivirales.

CONFLICTO DE INTERÉS

El autor declara que no existe conflicto de intereses.

BIBLIOGRAFÍA

1. World Health Organization. Ebola situation reports: 14 october 2015. <http://apps.who.int/ebola/current-situation/ebola-situation-report-14-october-2015>.
2. World Health Organization Statement on the WHO consultation on potential ebola therapies and vaccines. <http://www.who.int/mediacentre/news/statements/2014/ebola-therapies-consultation/en>.
3. World Health Organization: potential ebola therapies and vaccines. <http://www.who.int/csr/disease/ebola/ebola-new-interventions-02-sep-2014.pdf>.
4. Casillas AM, Nyamathi AM, Sosa A, Wilder CL, Sands H. A current review of ebola virus: pathogenesis, clinical presentation, and diagnostic assessment. *Biol Res Nurs* 2003; 4:268-75.
5. Mupapa K, Massamba M, Kibadi K, Kuvula K, Bwaka A, Kipasa M et al. Treatment of ebola hemorrhagic fever with blood transfusions from convalescent patients. *International Scientific and Technical committee. J Infect dis* 1999; 179(S):S18-S23.
6. Takada A, Kawaoka Y. The pathogenesis of ebola hemorrhagic fever. *Trends Microbiol* 2001; 9:506-11.

7. Lai KY, Ng WY, Cheng FF. Human ebola virus infection in West Africa: a review of available therapeutic agents that target different steps of the life cycle of ebola virus. *Infect Dis Pov* 2014; 3:43, doi:10.1186/2049-9957-3-43.
8. Dye JM, Herbert AS, Kuehne AI, Barth JF, Muhammad MA, Zak SE et al. Postexposure antibody prophylaxis protects nonhuman primates from filovirus disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012; 109:5034-9.
9. Martinez MJ, Salim AM, Hurtado JC, Kilgore PE. Ebola virus infection: overview and update on prevention and treatment. *Infect Dis Ther* 2015, doi:10.1007/s40121-015-0079-5.
10. Gao J, Yin L. Drug development for controlling ebola epidemic. A race against time. *Drug Dis Therap* 2014; 8:229-31.
11. Audet J, Wong G, Wang H, Lu G, Gao GF, Kobinger G et al. Molecular characterization of the monoclonal antibodies composing Zmab: a protective cocktail against ebola virus. *Science* 2014, doi:10.1038/srep06881.
12. Hernandez H, Marceau C, Halliday H, Callison J, Borisevich V, Escaffre O et al. Development and characterization of broadly cross-reactive monoclonal antibodies against all known ebolavirus species. *J Infect Dis* 2015; 212 (S):S410-S413.
13. Cardile AP, Mayers DL, Bavari S. Current status of chemically synthesized inhibitors of ebola virus. *Rec Pat Antifect Drug Dis* 2014; 9:97-103.
14. Pettitt J, Zeitlin L, Kim do H, Working C, Johnson JC, Bohorov O et al. Therapeutic intervention of ebola virus infection in rhesus macaques with the MB-003 monoclonal antibody cocktail. *Sci Transl Med* 2013; 5:199ra113.
15. Li H, Ying T, Yu F, Lu L, Jiang S. Development of therapeutics for treatment of ebola virus infection. *Microbes Infect* 2015; 17:109-17.
16. Bishop BM. Potential and emerging treatment options for ebola virus disease. *Ann Pharmacother* 2015; 49:196-206.
17. Qiu X, Audet J, Wong G, Pillet S, Bello A, Cabral T et al. Successful treatment of ebola virus-infected cynomolgus macaques with monoclonal antibodies. *Sci Transl Med* 2012; 4:138ra81.
18. Qiu X, Wong G, Audet J, Bello A, Fernando L, Alimonti JB et al. Reversion of advanced ebola virus disease in nonhuman primates with Zmapp. *Nature* 2014; 514:47-53.
19. Lyon GM, Mehta AK, Varkey JB, Brantley K, Plyler L, McElroy AK et al. Clinical care of two patients with ebola virus disease in the United States. *N Engl J Med* 2014; 371:2402-9.
20. Clinical Trials. gov. Putative investigational therapeutics in the treatment of patients with known ebola infection. 2015. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02363322?term=zmappt&rank=1>.
21. Yuan S. Possible FDA-approved drugs to treat ebola virus infection. *Infect Dis Pov* 2015; 4:23, doi:10.1186/s40249-015-0055-z.
22. De Clercq E. Ebola virus (EBOV) infection: therapeutic strategies. *Biochem Pharmacol* 2015; 93:1-10.
23. Furuta Y, Gowen BB, Takahashi K, Shiraki K, Smee DF, Barnard DL. Favipiravir (T-705), a novel viral RNA polymerase inhibitor. *Antiviral Res* 2013; 100:446-54.
24. Oestereich L, Lüdtkke A, Wurr S, Rieger T, Muñoz-Fontela C, Günther S. Successful treatment of advanced ebola virus infection with T-705 (favipiravir) in a small animal model. *Antiviral Res* 2014; 105:17-21.
25. Smither SJ, Eastaugh LS, Steward JA, Nelson M, Lenk RP, Lever MS. Post-exposure efficacy of oral T-705 (favipiravir) against inhalational ebola virus infection in mouse model. *Antiviral Res* 2014; 104:153-5.
26. Clinical Trials.gov. Efficacy of favipiravir against ebola (JIKI). 2015. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02329054?term=favipiravir&rank=5>.
27. Warren TK, Wells J, Panchal RG, Stuthman KS, Garza NL, Van Tongeren SA et al. Protection against filovirus diseases by a novel broad-spectrum nucleoside analogue BCX4430. *Nature* 2014; 508:402-5.
28. Falzarano D, Feldmann H. Possible leap ahead in filovirus therapeutics. *Cell Res* 2014; 24:647-8.
29. BioCryst Pharmaceuticals: NIAID. A phase I study to evaluate the safety, tolerability and pharmacokinetics of BCX4430. 2014. In Clinical Trials.gov. <http://clinicaltrials.gov/show/NCT02319772NLM>.
30. Hostelter KY. Synthesis and early development of hexadecyloxypropylcidofovir. An oral antipoxvirus nucleoside phosphonate. *Viruses* 2010; 2:2213-25.
31. Painter W, Robertson A, Trost LC, Godkin S, Lampert B, Painter G. First pharmacokinetic and safety study in humans of the novel lipid antiviral conjugate CMX001, a broad-spectrum oral drug active against double-stranded DNA viruses. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56:2726-34.
32. Chimerix, Inc. An open-label, multicenter study of the safety and antiviral activity of brincidofovir (BCV, CMX001) for ebola virus disease. 2000. <http://clinicaltrials.gov/show/NCT02271347NLM>.
33. Chimerix, Inc. Brincidofovir will not be considered in further clinical trials in ebola virus disease. <http://chimerix.com/releasedetail.cfm?ReleaseID=893927>.
34. Kole R, Krainer AR, Altman S. RNA therapeutics: beyond RNA interference and antisense oligonucleotides. *Nat Rev Drug Discov* 2012; 11:125-40.
35. Warren TK, Warfield KL, Wells J, Swenson DL, Donner KS, Van Tongeren SA et al. Advanced antisense therapies for postexposure protection against lethal filovirus infections. *Nat Med* 2010; 16:991-4.
36. Geisbert TW, Lee AC, Robbins M, Geisbert JB, Honko AN, Sood V et al. Post-exposure protection of non-human primates against a lethal ebola virus challenge using RNA interference. A proof-of-concept study. *Lancet* 2010; 375:1896-905.
37. Tekmira Pharmaceuticals Co. About investigational TKM-Ebola therapeutic. 2014. <http://www.tekmira.com/pipeline/tkm-ebola-php>.
38. Tekmira Pharmaceuticals Co. Tekmira establishes manufacturing and clinical trial agreement to provide TKM-Ebola-Guinea for clinical studies in West Africa. <http://investor.tekmiraspharm.com/releasedetail.cfm?ReleaseID=888660>.
39. Iversen PL, Warren TK, Wells JB, Garza NL, Mourich DV, Welch LS et al. Discovery and early development of AVI-7537 and AVI-7288 for the treatment of ebola virus and Marburg virus infections. *Viruses* 2012; 4:2806-30.

40. Heald AE, Iversen PL, Saoud JB, Sazani P, Charleston JS, Axtelle T et al. Safety and pharmacokinetic profiles of phosphorodiamidate morpholino oligomers with activity against ebola virus and marburg virus. Results of two single-ascending-dose studies. *Antimicrob Agents Chemother* 2014; 58:6639-47.
41. Gehring G, Rohrmann K, Atenchong N, Mittler E, Becker S, Dahlmann F et al. The clinically approved drugs amiodarone, dronedarone and verapamil inhibit filovirus cell entry. *J Antimicrob Chemother* 2014; 69:2121-31.
42. Shoemaker CJ, Schornberg KL, Delos SE, Scully C, Pajouhesh H, Olinger GG et al. Multiple cationic amphiphiles induce a Niemann-Pick C phenotype and inhibit Ebola virus entry and infection. *PLoS One* 2013; 8:e56265.
43. Johansen LM, Brannan JM, Delos SE, Shoemaker CJ, Stoszel A, Lear C et al. FDA-approved selective estrogen receptor modulators inhibit Ebola virus infection. *Sci Transl Med* 2013; 5:190ra79.
44. Panchal, R. G.; Reid, S. P.; Tran, J. P.; Bergeron, A. A.; Wells, J.; Kota, K. P.; Aman, J.; Bavari, S. Identification of an antioxidant small-molecule with broad-spectrum antiviral activity. *Antiviral Res* 2012; 93, 23-9.
45. Aman MJ, Kinch MS, Warfield K, Warren T, Yunus A, Enterlein S et al. Development of broad-spectrum antiviral with activity against Ebola virus. *Antiviral Res* 2009; 83:245-51.
46. Saeed MF, Kolokotsov AA, Albrecht T, Davey RA. Cellular entry of ebola virus involves uptake by a macropinocytosis-like mechanism and subsequent trafficking through early and late endosomes. *PLoS Pathog* 2010; 6:e1001110.