

FARMACI ANTIVIRALI



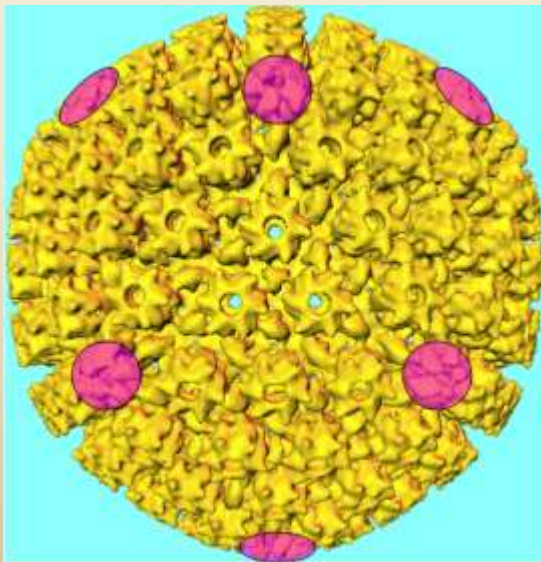
FARMACI ANTI-VIRALI

Chemioterapia antivirale



Batteri

- Molti antibiotici
- Altamente selettiva



Virus

- Utilizzano il metabolismo della cellula ospite
- Selettività difficile
- Tossicità

GENERALITÀ

- I virus sono **parassiti obbligati**, sfruttano i meccanismi replicativi della cellula ospite
- Gli agenti antivirali dovrebbero colpire **selettivamente** le tappe dell'infezione virale
- Il farmaco ideale dovrebbe ridurre i sintomi della malattia senza modificare l'infezione così tanto da prevenire lo sviluppo di una **risposta immune** nell'ospite

Il problema principale è la SELETTIVITÀ

Altri problemi:

Tossicità

Rapida escrezione

Rapido metabolismo

Scarso assorbimento

CHEMIOTERAPIA ANTI-VIRALE

FARMACO IDEALE

- Idrosolubile
- Chimicamente e metabolicamente stabile
- Facilmente assorbibile

NON

- Tossico
- Carcinogeno
- Allergico
- Mutageno
- Teratogeno

**Indice
Terapeutico (IT):**

Minima dose tossica per la cellula
Minima dose tossica per il virus

Farmaco Efficace: $IT \geq 100-1000$

**Altre considerazioni → la gravità della malattia:
Rhinovirus vs. rabbia sintomatica**

CHEMIOTERAPIA ANTI-VIRALE

Il farmaco ideale dovrebbe interrompere la replicazione virale in un punto **SPECIFICO** ed **ESSENZIALE** del virus senza influenzare il normale metabolismo cellulare.

Sviluppo di farmaci antivirali molto lento a causa di numerosi fattori:

- **Bersagli** d'azione virus << a batteri/antibiotici
- **metabolismo virale dipende da quello cellulare** → è difficile colpire l'uno senza danneggiare anche l'altro
- ogni virus ha **meccanismi propri** → è difficile che un farmaco agisca verso diverse specie virali
- impossibilità di curare **infezioni latenti**
- **i costi di sviluppo**

CHEMIOTERAPIA ANTI-VIRALE

La ricerca sugli antivirali mira a:

- **ridurre la TOSSICITA'** (i primi farmaci antivirali erano molto tossici)
- **sviluppare farmaci** per malattie per cui non esiste vaccino (malattie nuove/emergenti), o non esistono vaccini efficaci (per la molteplicità dei sierotipi (es: rhinovirus) o per la variabilità del singolo virus infettante (es: influenza, HIV), o per i casi di immunosoppressione (malattie come AIDS, ma anche tumori, trapianti, ecc) in cui la vaccinazione non è effettuabile a causa della ridotta capacità di risposta.

Un buon farmaco di successo deve interferire con:

1. Una **specifica funzione virale**: ad es. un enzima necessario per il ciclo replicativo del virus
2. Una **funzione cellulare** necessaria per la replicazione virale

Se interferisce con una funzione cellulare:

1. deve essere **cruciale per il virus ma non per la cellula**, oppure
2. il farmaco si **attiva solo nella cellula infettata**, quindi solo la cellula infettata dal virus viene uccisa

CHEMIOTERAPIA ANTI-VIRALE

Specifici target SOLO virali sono gli ENZIMI VIRALI:

Polimerasi degli Acidi Nucleici

DNA-polimerasi DNA-dipendenti (virus a DNA)

RNA-polimerasi RNA-dipendenti (virus ad RNA)

DNA-polimerasi RNA-dipendenti (RT)(Retrovirus)

Proteasi

Integrasi

Neuraminidasi

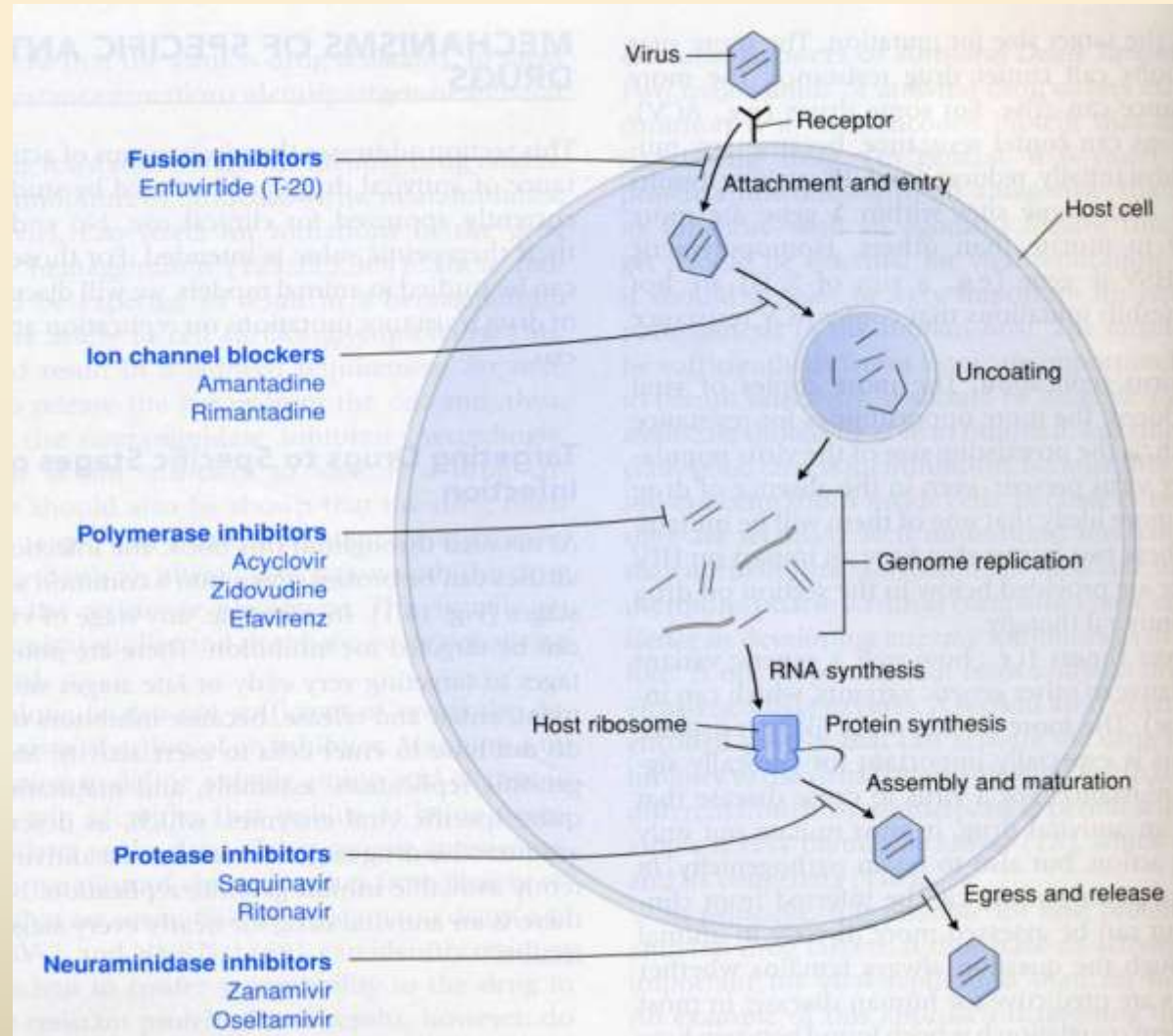
CHEMIOTERAPIA ANTI-VIRALE

La virologia molecolare ha identificato:

- le **diverse fasi** del processo infettivo virus specifico
- i **bersagli** per l'inibizione farmacologica

Tutte le fasi del ciclo virale sono potenziali bersagli per l'azione degli antivirali:

- l'attacco del virus alla cellula
- lo scapsidamento
- la retrotrascrizione e l'integrazione (in alcuni virus)
- la trascrizione virale
- la replicazione
- la traduzione di proteine virali
- l'assemblaggio, la maturazione e il rilascio dei virioni.



NB - L'inibizione di assorbimento/ penetrazione e di rilascio hanno il vantaggio di non richiedere l'ingresso del farmaco nella cellula.

1.

**Farmaci che agiscono
sulle fasi precoci di
interazione virus cellula:**

INGRESSO e UNCOATING

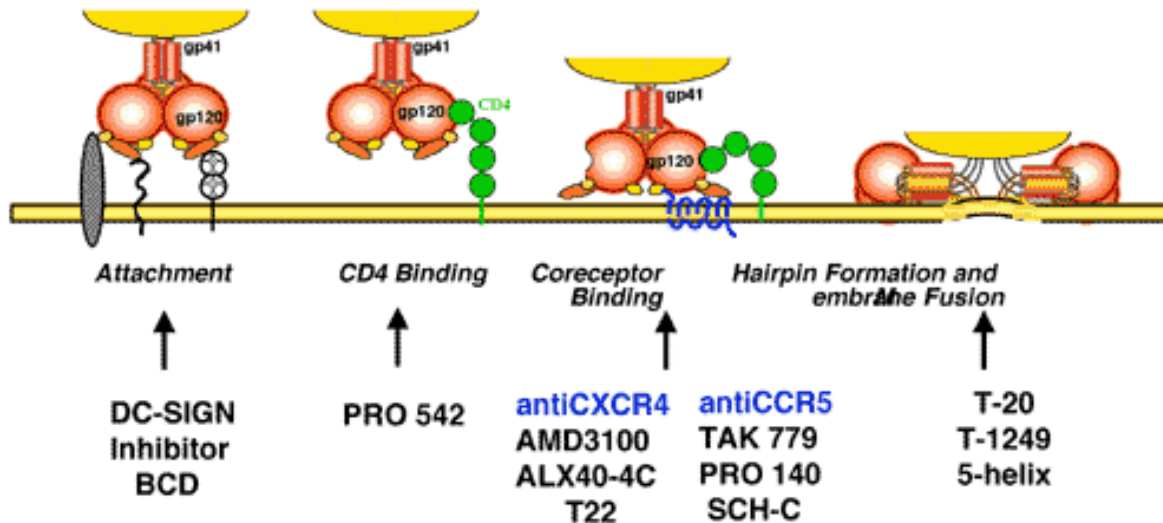
Inibizione INGRESSO

Soprattutto per HIV sono in fase di studio molti inibitori di ingresso.

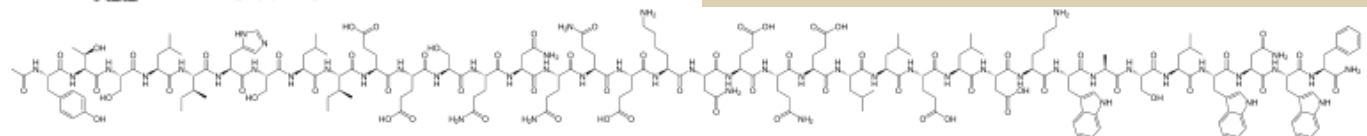
CD4 solubile (brevissima emivita, scarsi risultati), **PRO542** (tetramero del CD4 solubile), composti **leganti i corecettori** come α CXCR4 o CCR5 (problemi legati al fatto che sono recettori per CK importanti e si blocca anche l'azione infiammatoria).

Medscape® www.medscape.com

Compounds under development to inhibit HIV fusion



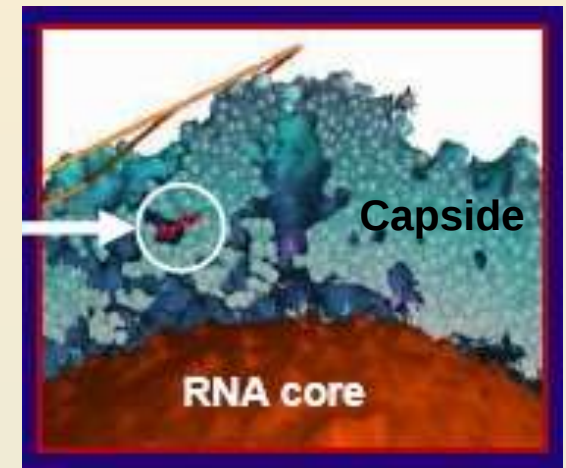
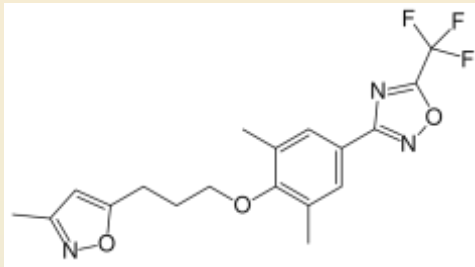
Enfuvirtide (T-20, Fuzeon) attivo contro HIV. Unico approvato per HIV. Si lega alla gp41 e impedisce la fusione (e quindi la penetrazione).



Inibizione INGRESSO

Pleconaril: specifico per i Picornavirus. Si lega ad una depressione formata nel capside virale da VP1, con un duplice effetto:

- 1) **Inibisce il legame con il recettore ICAM-1** (usato da ~90% dei ceppi di rhinovirus)
- 2) **Inibisce la spoliatura**



Effetti clinici (Schering-Plough):

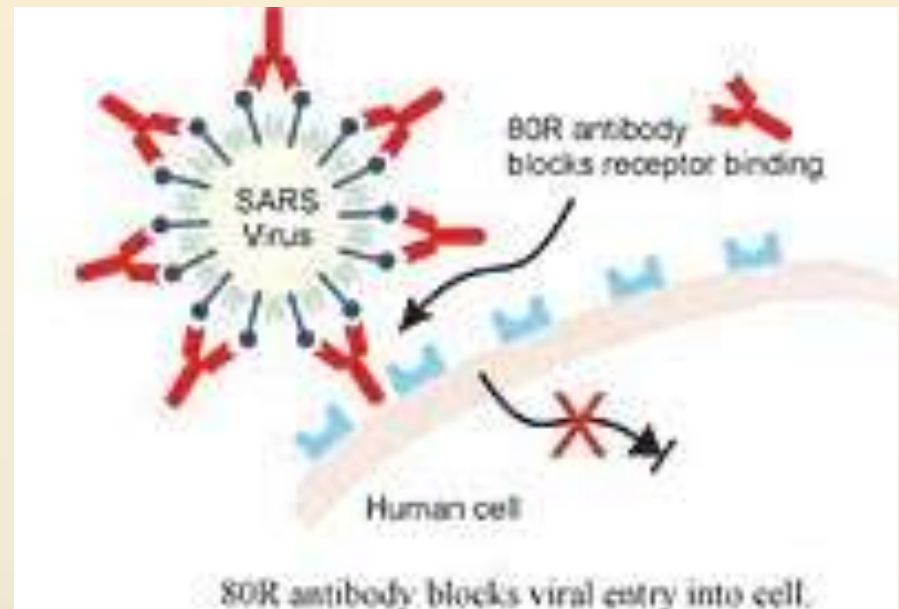
Attualmente viene usato per prevenire l'esacerbazione dei sintomi dell'asma nei soggetti asmatici affetti da Rhinovirus e da Enterovirus (Picornavirus che possono dare infezioni respiratorie).

Non impedisce la malattia, ma anticipa la guarigione completa di 1-2 giorni ed almeno 50% dei sintomi ha sensibile miglioramento in 4 giorni, anziché in 8.

Inibizione INGRESSO

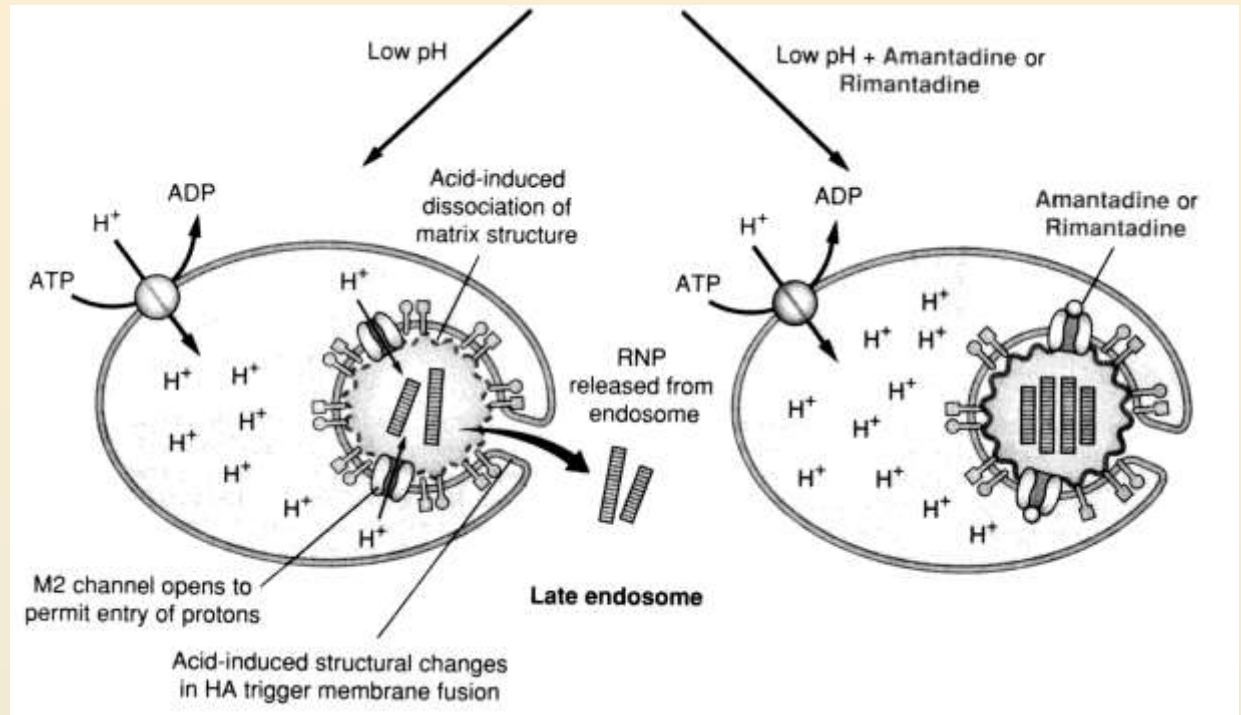
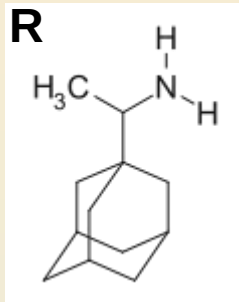
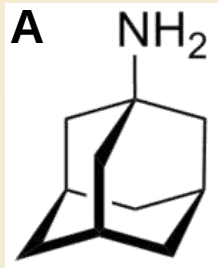
Scientists identify a human antibody that blocks SARS virus infection

Dr. Marasco says the 80R antibody is an effective viral entry inhibitor, looks promising in animal tests and could be commercially developed for testing in clinical trials. "It would be very satisfying to see this go into humans and do good"



Inibizione SPOLIAZIONE

**Amantadina,
Rimantadina:**
prevengono la
spoliazione di
ortomixovirus



Dopo il legame con il recettore, il virus è internalizzato per endocitosi. Il basso pH nell'endosoma provoca la fusione fra le membrane cellulari e dell'involuppo, ed un flusso di H⁺ attraverso il canale formato dalla proteina virale M2 rilascia i geni virali nel citoplasma. Questi farmaci **interagiscono con M2 inibendo il flusso di H⁺**, e di conseguenza l'uncoating.

Sono efficaci SOLO contro influenza A , provocano spesso effetti tossici, e selezionano rapidamente mutanti resistenti → attualmente sconsigliati nella terapia dell'influenza.

2.

**Farmaci che agiscono
sulle fasi di sintesi
macromolecolari:**

**TRASCRIZIONE,
REPLICAZIONE e
TRADUZIONE**

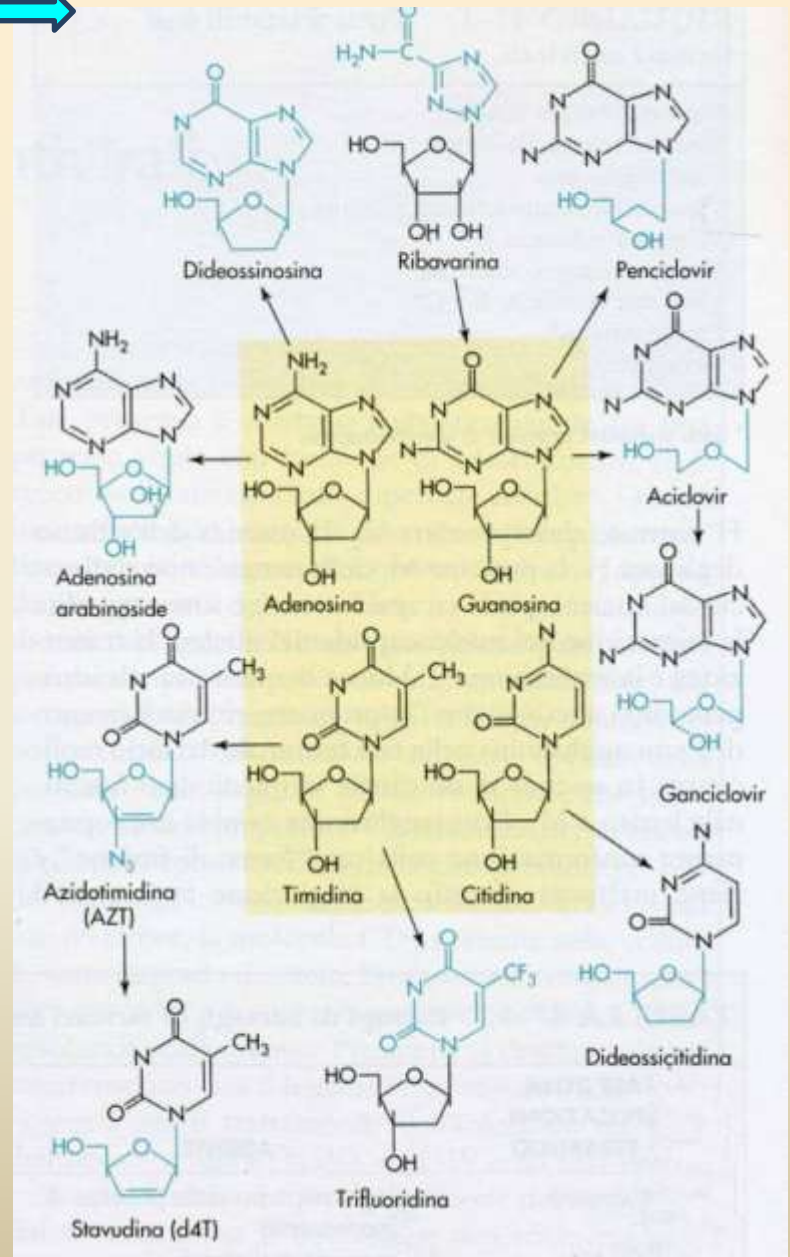
Inibizione TRASCRIZIONE/REPLICAZIONE

Per lo più sono **ANALOGHI NUCLEOSIDICI**.

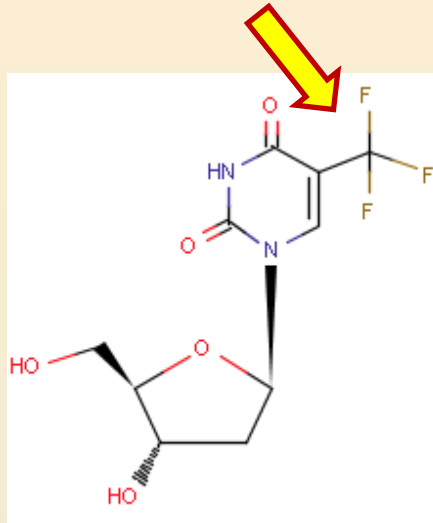
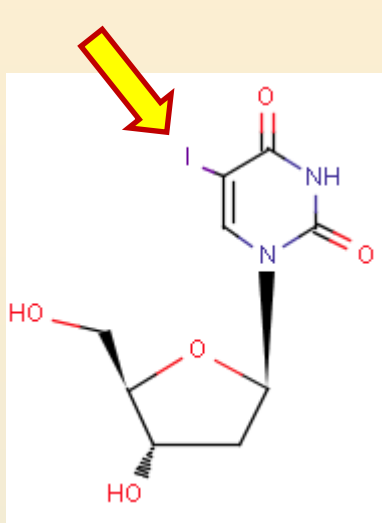
Hanno come bersaglio le **polimerasi virali**, dalle quali vengono usate per l'incorporazione nel DNA/RNA, portando al blocco dell'allungamento della catena nascente.

La **selettività** è dovuta al fatto che le DNAPol virali sono meno specifiche di quelle cellulari rispetto al riconoscimento dei nucleotidi.

Ci sono anche **INIBITORI NON NUCLEOSIDICI** che, senza sostituire il substrato, inibiscono direttamente la polimerasi.

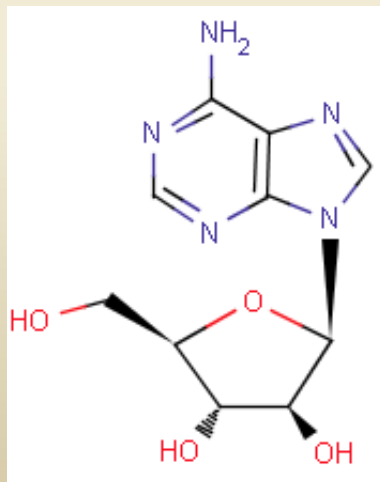


Analoghi nucleosidici



5-iodio-deossiuridina (IUDR), trifluorotimidina (TFT): analoghi pirimidine fosforilati da enzimi cellulari, utilizzati contro HSV prima dello sviluppo di ACV e GCV.

TOSSICI, impiego topico in cheratite erpetica (assenza di vascolarizzazione corneale limita gli effetti tossici)



Adenina- arabinoside (Ara-A): analogo adenosina, inibisce DNAPol virale (ma anche, sebbene meno, quella cellulare → effetti **TOSSICI**).

Uso esclusivamente topico in HSV oculare, oppure in gravi casi: encefalite da HSV, herpes neonatale, zoster disseminato.

Molti virus hanno le **proprie polimerasi virali**, che sono quindi buoni bersagli per i farmaci.

Gli α -herpesvirus hanno inoltre un altro enzima coinvolto nella replicazione: la **TIMIDINA CHINASI**, un enzima che fosforila i nucleosidi che devono poi essere inseriti nella catena di DNA. Perché lo possiedono?

Il virus TK- non può crescere nelle cellule neuronali perchè queste non proliferano (non fanno DNA) → la TK virale consente al virus di crescere in cellule che non stanno sintetizzando DNA.

La TK virale fosforila ha scarsa specificità, quindi fosforila qualsiasi deossinucleotide → Il farmaco (analogo nucleosidico) può quindi essere somministrato nella forma non fosforilata:

- il farmaco passa attraverso le membrane
- ha selettività in quanto solo le cellule infette hanno l'enzima fosforilante il farmaco (la TK cellulare, dove è espressa, non fosforila/attiva il farmaco, per la sua maggiore specificità).

Aciclovir

- Profarmaco
- analogo guanosina
- **attivo contro HSV e VZV.**

Elion & Hitchings hanno vinto il premio Nobel nel 1988 per avere sviluppato farmaci che bloccano la sintesi di acidi nucleici in tumori (6-mercaptopurina per leucemia) e in cellule infettate (aciclovir)



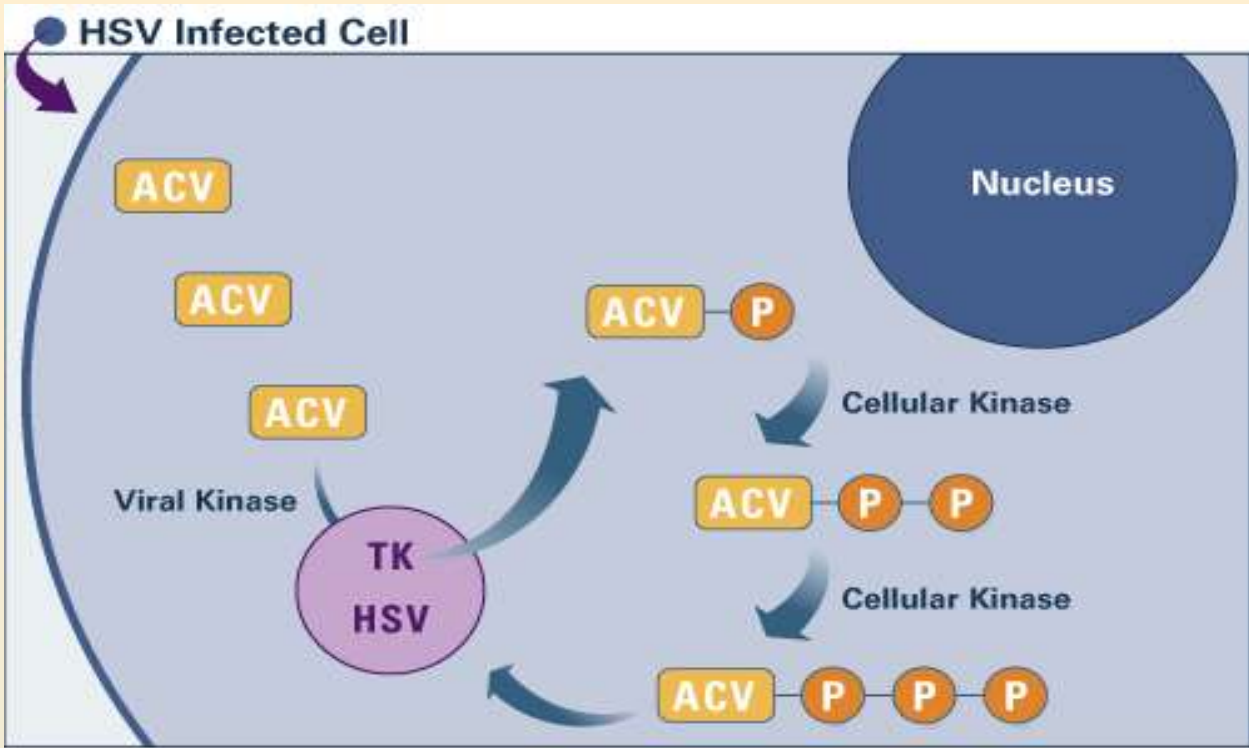
Azione selettiva su alfa-herpesvirus:

- 1) attivazione mediante fosforilazione specifica (ACV-P) ad opera della TK virale; sulla forma mono-P intervengono poi chinasi cellulari $\Rightarrow$ ACV-PPP
- 2) alta affinità per la DNA polimerasi virale
- 3) incorporazione di ACV-TP nella catena nascente di DNA virale
- 4) terminazione della catena di neosintesi: manca l'OH in 3'
- 5) inattivazione selettiva, irreversibile, della DNA polimerasi virale

ACV in circolo ha emivita breve: sono stati sviluppati diversi derivati (es: valaciclovir e famciclovir) con maggiore biodisponibilità e stabilità.

Svantaggi: frequente la possibilità di mutazioni resistenti, TK- o con enzima che non riconosce più ACV come substrato.

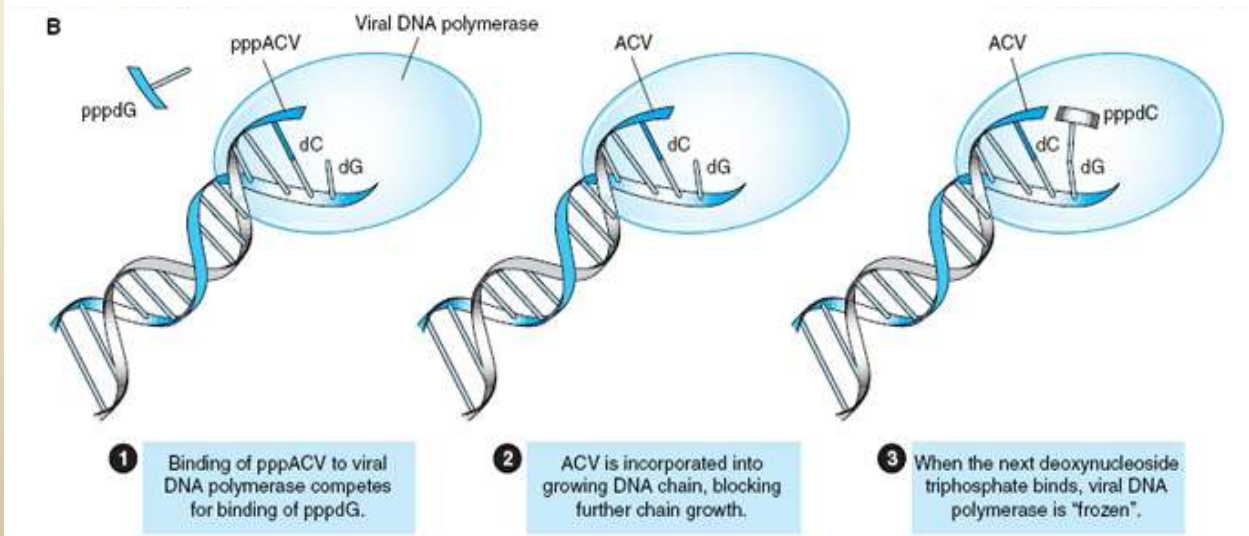
Inibizione REPLICAZIONE



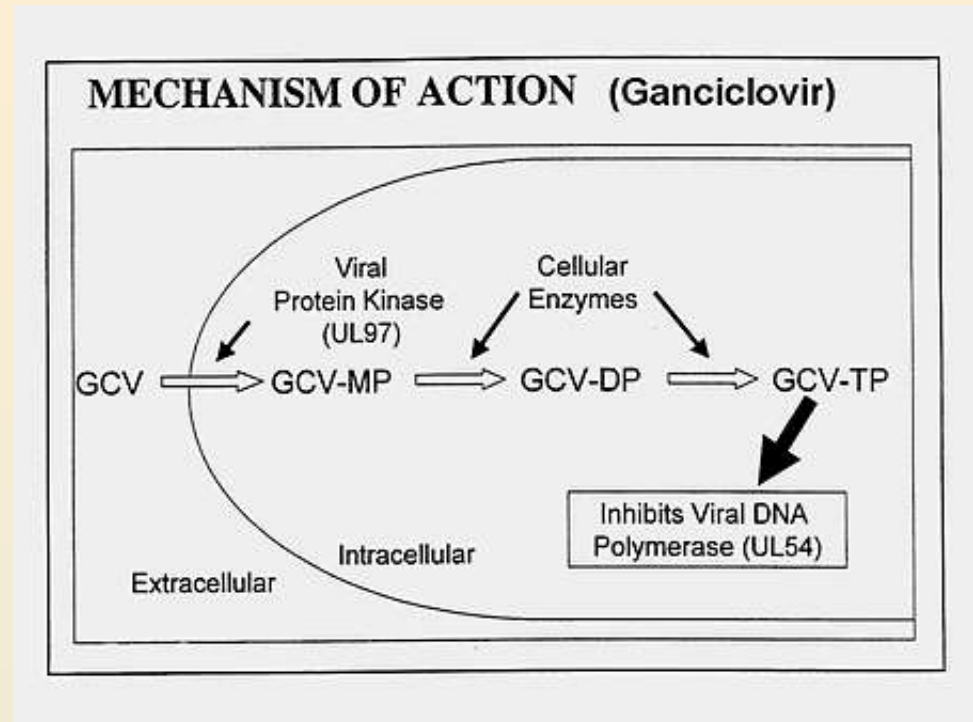
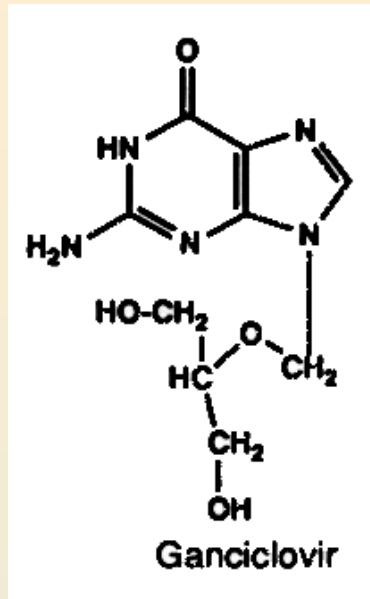
Meccanismo d'azione di aciclovir

Il farmaco è fosforilato dalla TK del virus, formando ACV-monoP.

Enzimi cellulari intervengono sul monoP formando il trifosfato (ACV-PPP), che si lega alla DNAPol virale (compete con la guanina). L'ACV-PPP incorporato nella catena nascente si lega alla citosina, ma mancando dell'OH necessario in 3' blocca l'allungamento.



Ganciclovir

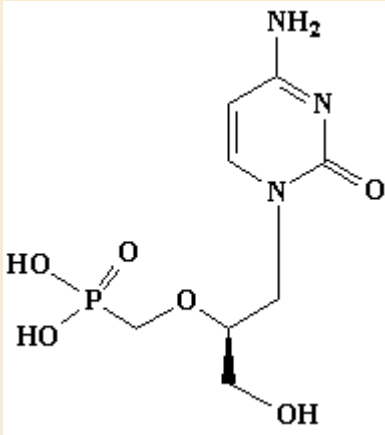


Profarmaco, analogo guanina, usato nelle infezioni da **CMV**: inibisce la **DNApol (UL54)**, terminando precocemente la sintesi del DNA virale.

Il profarmaco è prima fosforilato da un enzima virale (**UL97**), e poi da enzimi cellulari. Utilizzato soprattutto in gravi casi di infezione da CMV (AIDS), ed in trapiantati (anche in via preventiva).

Il suo uso prolungato comunque è associato all'insorgenza di mutanti resistenti.

CIDOFOVIR



Profarmaco, analogo citidina, viene disforilato (ha già un P) da enzimi cellulari (non da enzimi virali, per cui anche mutanti nelle fosforilasi sono sensibili al farmaco).

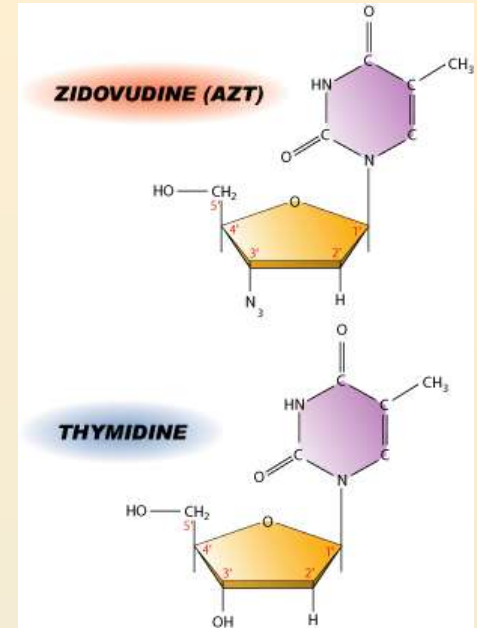
Dopo la fosforilazione intracellulare, inibisce la **DNApol** virale (+ di 100 volte rispetto agli enzimi cellulari), competendo con la citosina. L'incorporazione nella catena di DNA nascente blocca la sintesi.

Usato contro HSV, VZV, CMV, EBV, papovavirus, Adenovirus e Poxvirus.

Effetti collaterali: nefrotossicità.

AZT (Zidovudina)

Profarmaco, analogo timina (azidotimidina), è stato il primo farmaco usato contro HIV. Manca dell'OH in 3', e impedisce l'allungamento della catena di DNA. Ha affinità **100 volte maggiore per RT di HIV che per le DNAPol cellulari**. Fosforilato da chinasi cellulari, si accumula in tutte le cellule, anche quelle non infettate (al contrario di ACV), con notevoli problemi di tossicità.



HIV sviluppa velocemente mutazioni che lo rendono resistente ad AZT.

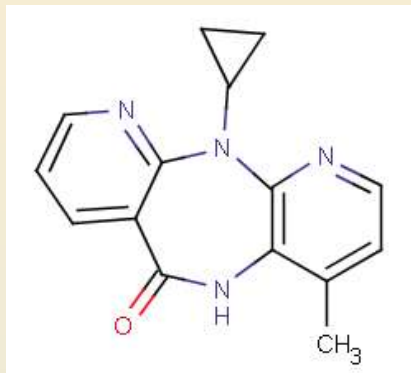
Sono stati sviluppati numerosi altri farmaci con principio simile ad AZT: ddI (dideossiinosina=didanosina, Videx®), ddC (dideossicitidina =zalcitabina, Hivid®), d4T (stavudina, Zerit®), 3TC (lamivudina, Epivir®), adefovir, tenofovir, ecc.

Alcuni di questi farmaci (stavudina, adefovir, tenofovir) sono attivi anche contro il virus dell'epatite B.

Inibitori non nucleosidici della RT di HIV

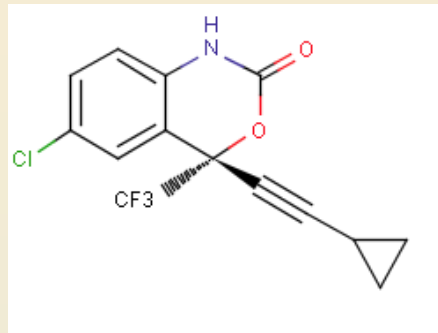
NNRTI: inibiscono RT legandosi direttamente all'enzima ed impedendone il funzionamento.

Nevirapina

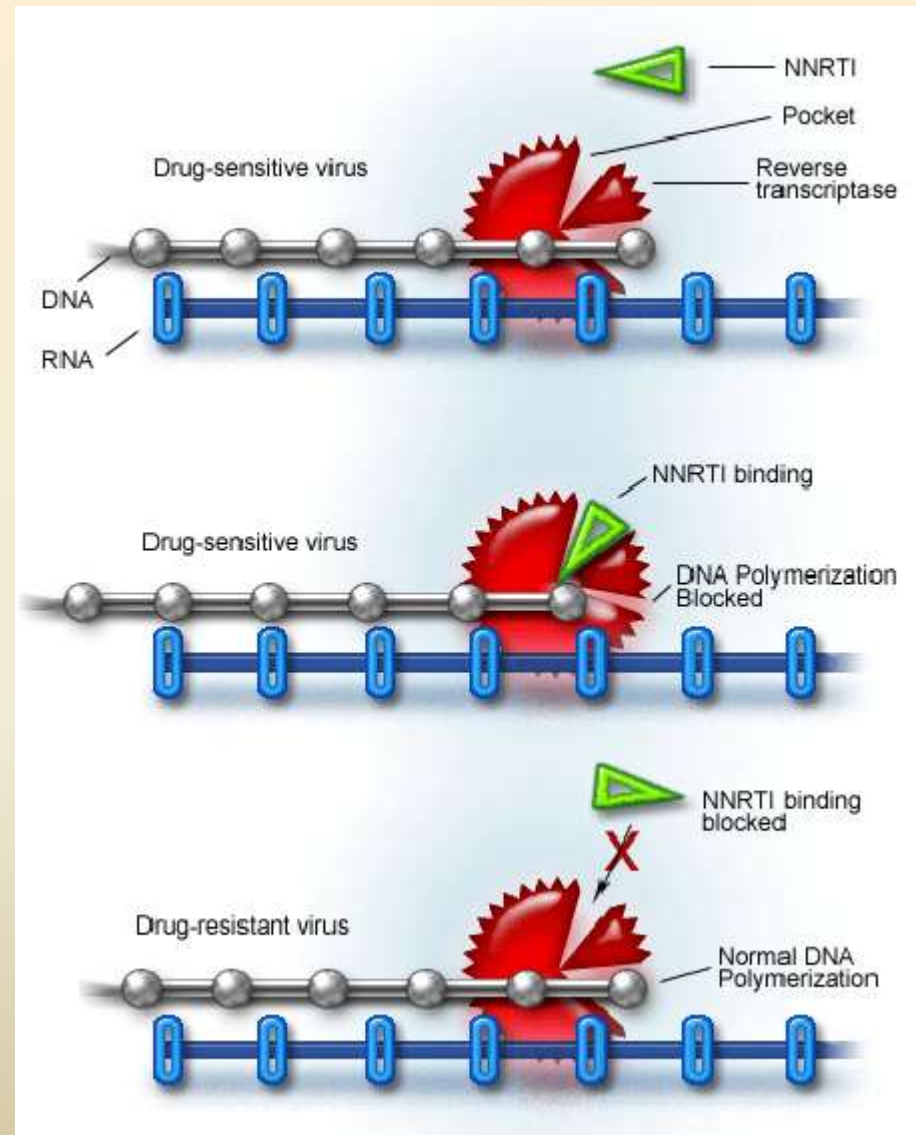


Approvato per pazienti AIDS. Buon bloccante della trasmissione madre-figlio perinatale (anche allattamento materno)
Una singola dose al parto riduce la trasmissione di HIV del 50%

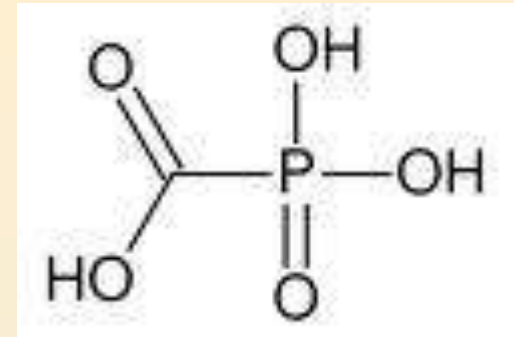
Sustiva, Efavirenz



Approvato per pazienti AIDS. In terapia combinata con Nevirapina sopprime la viremia.



Foscarnet



Inibitore **non nucleosidico**, utilizzato contro herpesvirus, per gravi infezioni ACV-resistenti.

Analogo pirofosfato (normalmente, è prodotto dalla DNAPol durante la sintesi). Si attacca al sito della polimerasi che lega il pirofosfato, impedendo il funzionamento dell'enzima. 10-100X più attivo sulla DNAPol virale rispetto a quella cellulare.

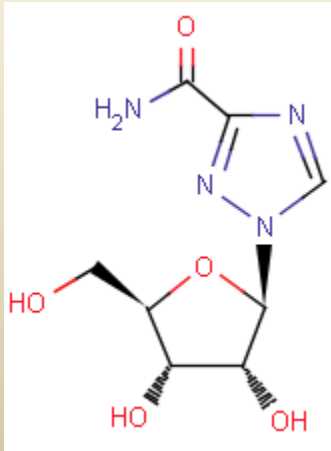
Tossico: si accumula in ossa e reni.

Rapida comparsa di mutanti resistenti.

Ribavirina

Nucleoside sintetico che inibisce l'enzima inosino-monofosfato-deidrogenasi, portando a una diminuita sintesi di nucleotidi guaninici → inibizione della sintesi di acidi nucleici. Attivo soprattutto sui virus a RNA, per possibili altre azioni: inibizione capping dell'mRNA, inibizione RNA pol, azione ipermutagena.

Meccanismo azione ipermutagena: se il tasso di mutazione dei virus a RNA, già elevato di per sè, aumenta, allora aumenta il N° di genomi non funzionali, con mutazioni letali (RNA error catastrophe).



Scarso effetto su virus influenza in vitro, spesso efficace in animali ma meno nell'uomo, usato contro il virus respiratorio sinciziale, il Lassa fever, e le febbri emorragiche Korean e Argentine.

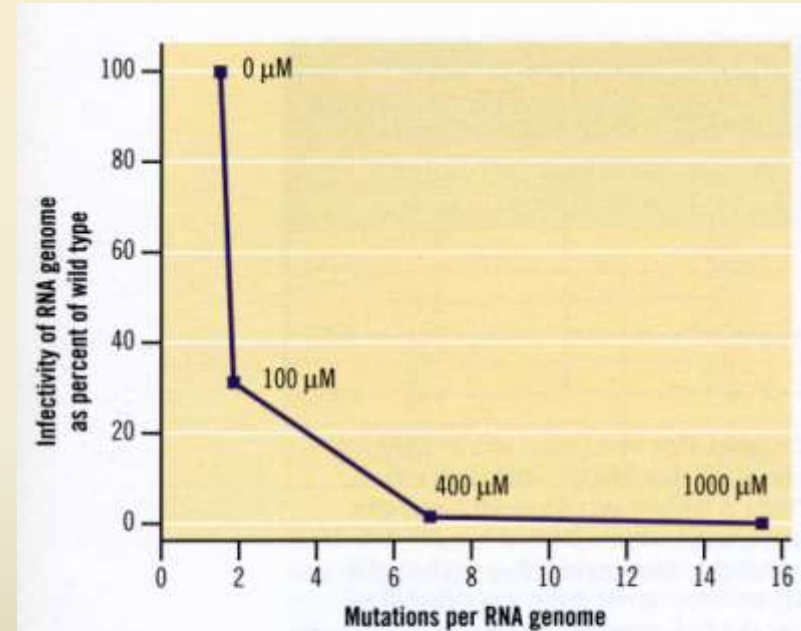


FIGURE 16.1 Ribavirin can initiate RNA 'error catastrophe' in a model virus. Poliovirus was grown in the presence of increasing doses of ribavirin and the infectivity per genome was plotted against the number of mutation per genome. The concentration of ribavirin is shown for each point. After Crotty S, Cameron CE, Andino R. RNA virus error catastrophe: direct molecular test by using ribavirin. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2001, 98: 6895–6900.

Inibitori dell'integrasi di HIV

Blocca il sito attivo dell'integrasi, quindi il provirus non si può integrare e non può essere trascritto.

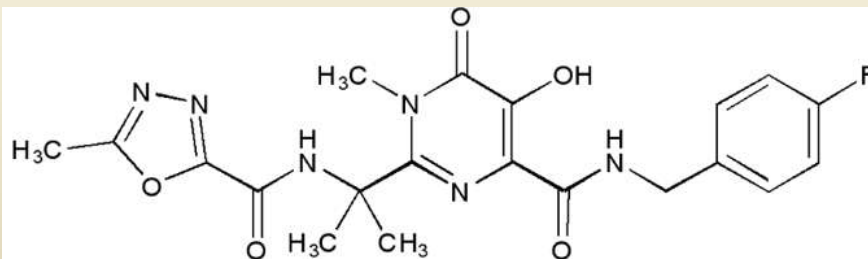
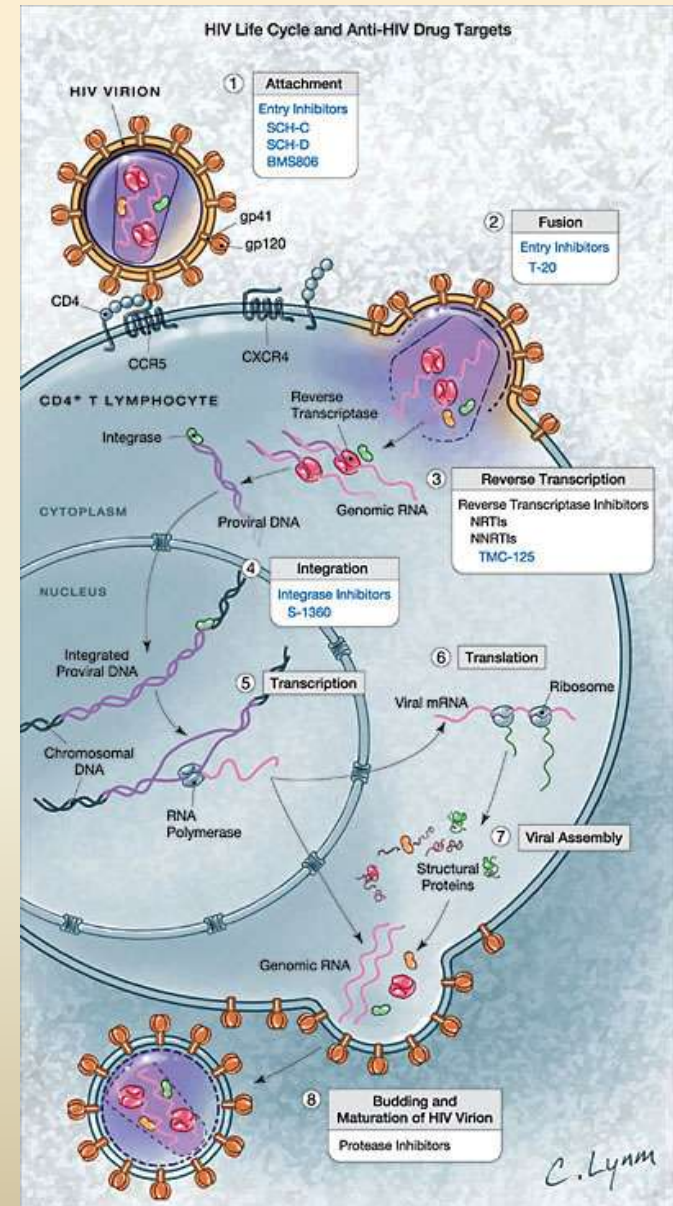


Figure 2. The chemical structure of raltegravir

Adapted with permission from Merck & Co., Inc.⁴⁹



Inibizione TRADUZIONE

IFN: possibile utilizzo terapeutico (uso diretto o uso di induttori sintetici).

TIOSEMICARBAZONI: probabile inibizione della traduzione degli mRNA virali “tardivi” di Poxvirus. Sembrano attivi anche contro Herpesvirus.

CHEMIOTERAPIA ANTI-VIRALE

3.

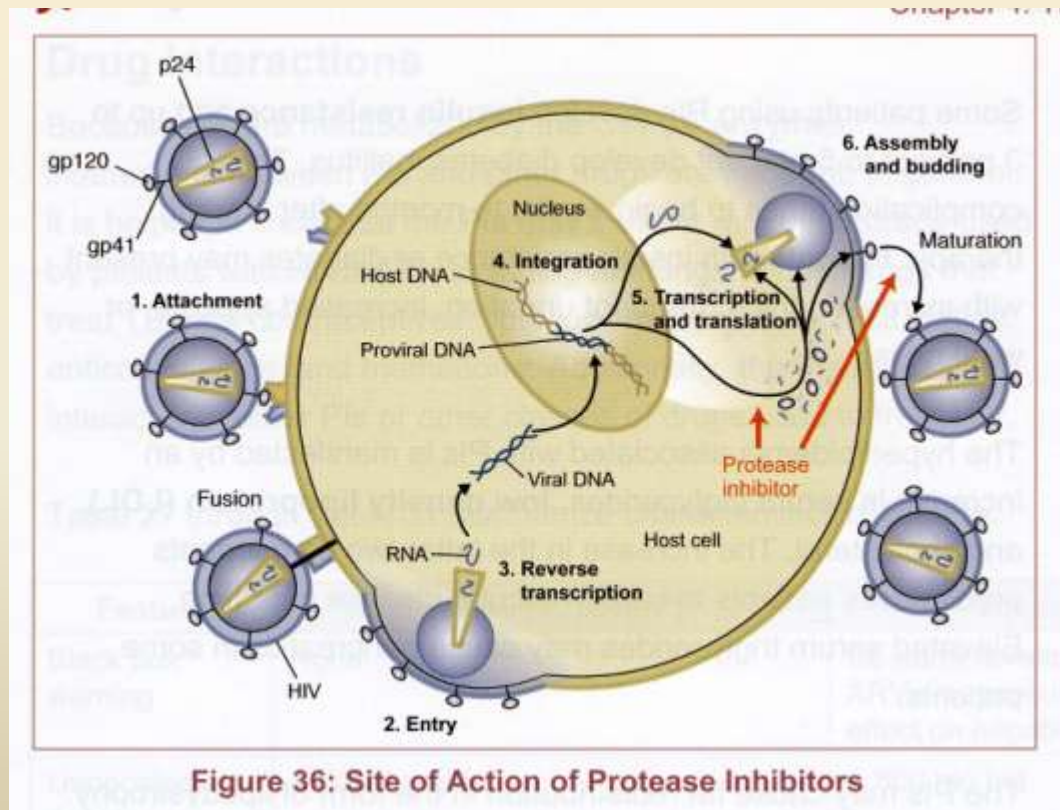
**Farmaci che agiscono sul
processing proteico che
consente
l'ASSEMBLAGGIO:**

PROTEASI VIRALI

Inibizione ASSEMBLAGGIO

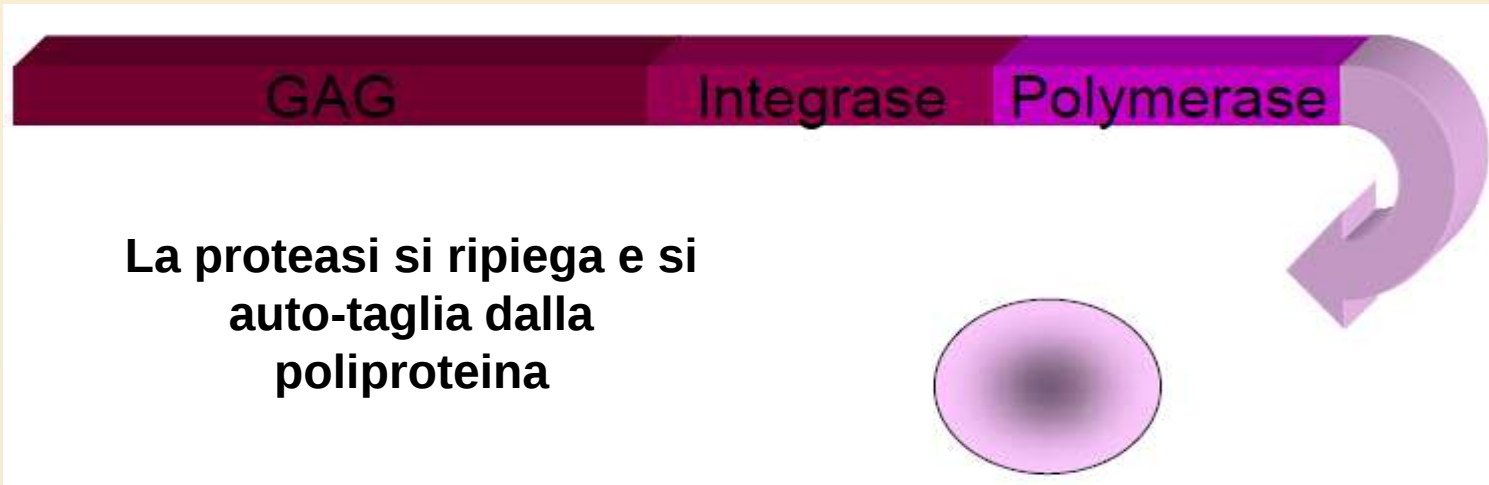
Inibitori della PROTEASI di HIV

Sono state sviluppate diverse molecole che inibiscono la **proteasi** di HIV.

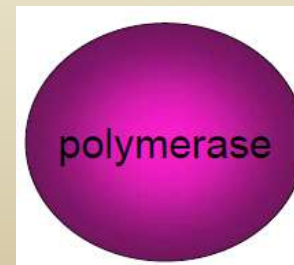
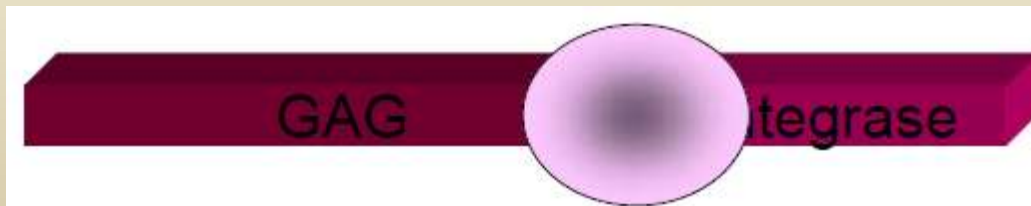


Retrovirus – HIV

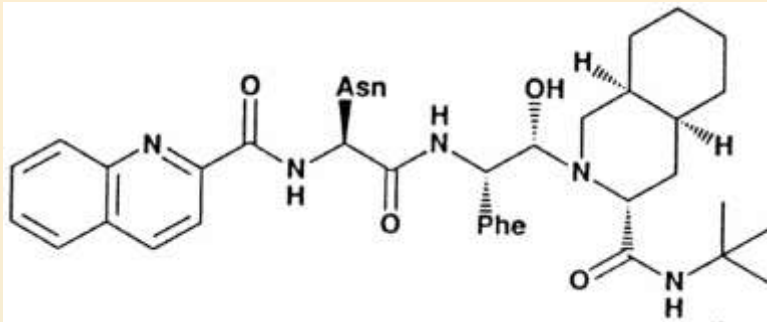
gag/pol polyprotein



La proteasi taglia in un sito tra integrasi e polimerasi.



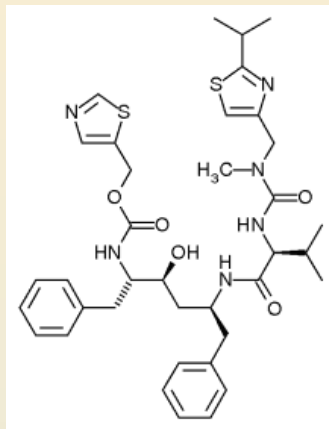
Inibitori della proteasi di HIV



Saquinavir in HAART:

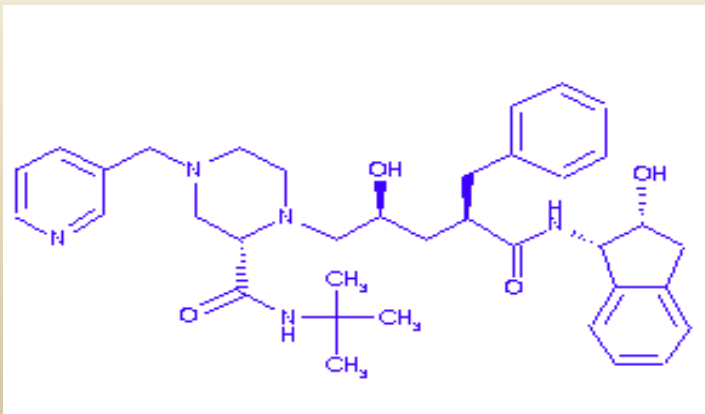
Viremia ↓

CD4+ cells ↑



Ritonavir in HAART:

AIDS decessi ↓ 58%



Indinavir in HAART:

No detectable HIV by PCR (da $> 10^6$ copie RNA/ml a < 200 copie)

Il trattamento prolungato per anni mantiene efficacia (No replication) e non induce comparsa di resistenti (No resistance).

CHEMIOTERAPIA ANTI-VIRALE

4.

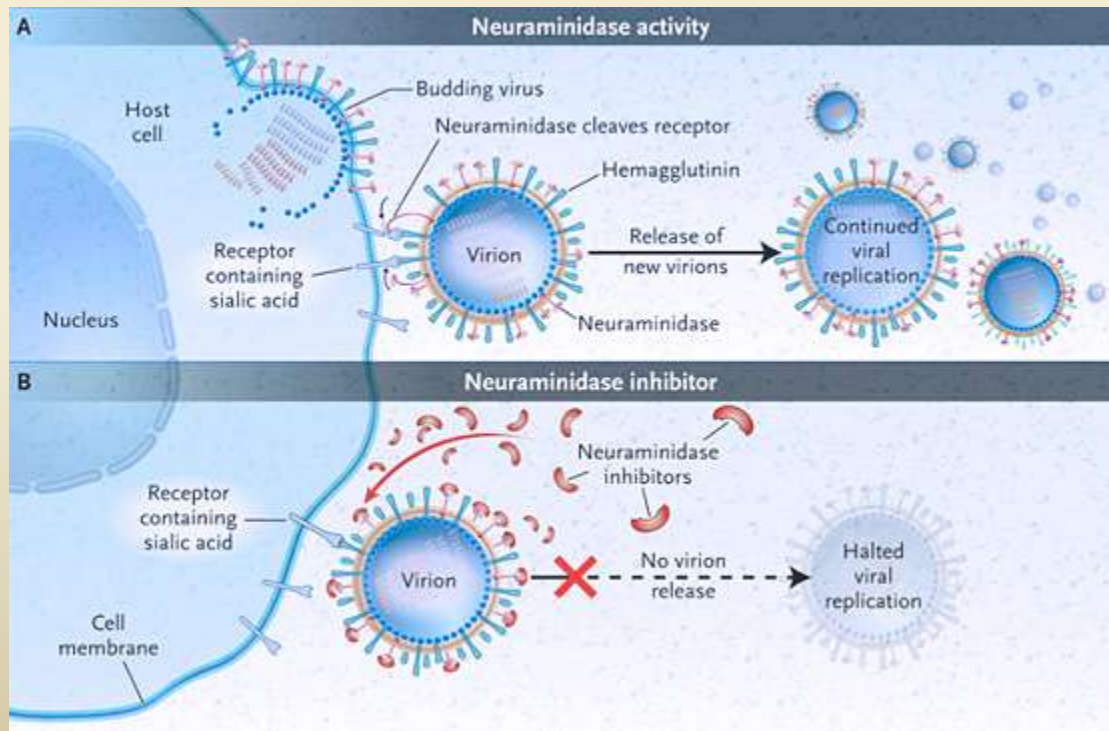
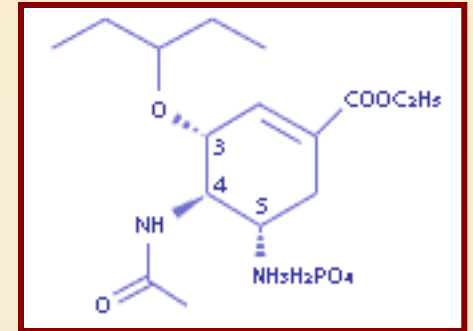
**Farmaci che agiscono
sulla fase di EGRESSO**

Inibitori del RILASCIO

Inibizione RILASCIO

Tamiflu (principio attivo: oseltamivir)

Attivo contro i virus influenzali (A e B).
Blocca la **neuroaminidasi** virale,
necessaria per il rilascio dalla cellula
infettata delle particelle virali neoformate



Zanamivir (Relenza): altro farmaco inibitore della neuroaminidasi

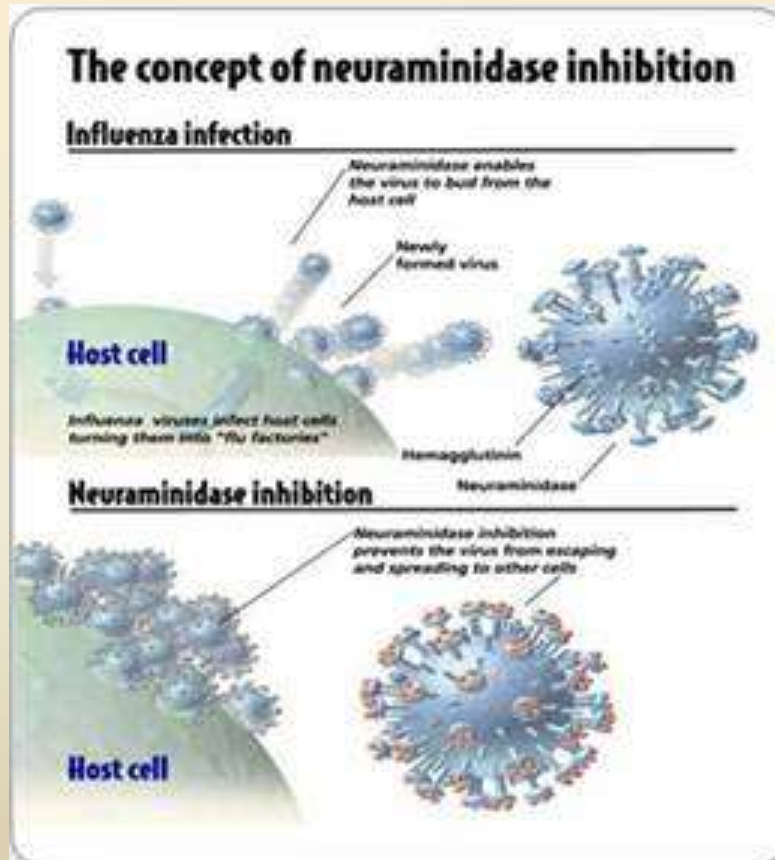
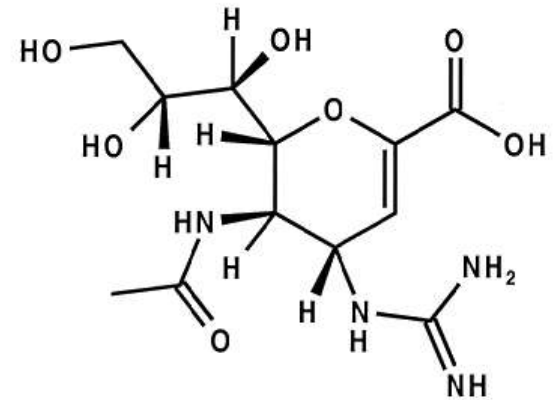


TABELLA 50-2. Alcune terapie con farmaci antivirali approvati dalla Food and Drug Administration degli Stati Uniti

Virus	Farmaco antivirale	Nome commerciale
Virus dell'Herpes simplex e virus della varicella-zoster	Aciclovir*	Zovirax
	Valaciclovir*	Valtrex
	Penciclovir	Denavir
	Famciclovir*	Famvir
	Iododeossiuridina (idossuridina)*	Stoxil
	Trifluoridina	Viroptic
Citomegalovirus	Ganciclovir	Cytovene
	Valganciclovir	Valcyte
	Cidofovir	Vistide
	Fosfonoformato (foscarnet)	Foscavir
Virus dell'immunodeficienza acquisita		
Analoghi nucleosidici inibitori della trascrittasi inversa	Azidotimidina (zidovudina)	Retrovir
	Dideossinosina (didanosina)	Videx
	Dideossicitidina (zalcitabina)	Hivid
	Stavudina (d4T)	Zerit
	Lamivudina (3TC)	Epivir
	Nevirapina	Viramune
Inibitori non-nucleosidici della trascrittasi inversa	Delavirdina	Rescriptor
	Saquinavir	Invirase
Inibitori delle proteasi	Ritonavir	Norvir
	Indinavir	Crixivan
	Nelfinavir	Viracept
	Enfuvirtide	Fuzeon
Inibitore della fusione		
Virus dell'influenza A	Amantadina	Symmetrel
	Rimantadina	Flumadine
Virus dell'influenza A e B	Zanamivir	Relenza
	Oseltamivir	Tamiflu
Virus dell'epatite B	Lamivudina	Epivir
	Adefovir dipivoxil	Hepsera
Virus dell'epatite C	Interferone- α + ribavirina	
Papillomavirus	Interferone- α	
Virus respiratorio sinciziale, virus di Lassa	Ribavirina	Virazole
Picornavirus	Pleconaril	